



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO RETROSPETIVO DE ÍNDICES REPRODUTIVOS EM VACAS FRÍSIAS
HOLSTEIN: ANÁLISE PRELIMINAR DA UTILIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE
RESSINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO

MARIA MADALENA RAIO COSTA RIBEIRO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Magda Alexandra Nobre

Aguiar de Andrade Fontes

Doutora Ana Catarina Belejo Mora Torres

Doutor João Nestor da Chagas e Silva

ORIENTADOR

Doutor João Nestor da Chagas e Silva

CO-ORIENTADOR

Dr. Carsten Luís Walter Dammert Hasler

2018

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO RETROSPETIVO DE ÍNDICES REPRODUTIVOS EM VACAS FRÍSIAS
HOLSTEIN: ANÁLISE PRELIMINAR DA UTILIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE
RESSINCRONIZAÇÃO DE OVULAÇÃO

MARIA MADALENA RAIO COSTA RIBEIRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Magda Alexandra Nobre Martins
Aguiar de Andrade Fontes

Doutora Ana Catarina Belejo Mora Torres

Doutor João Nestor da Chagas e Silva

ORIENTADOR

Doutor João Nestor da Chagas e Silva

CO-ORIENTADOR

Dr. Carsten Luís Walter Dammert Hasler

2018

LISBOA

Para a minha querida irmã.

Pela pessoa extraordinária que é, por me ter feito acreditar todos os dias que isto seria possível
e por me ensinar a “pôr tudo quanto sou no mínimo que faço”

Agradecimentos

Ao Doutor Nestor Chagas e Silva, por orientar a minha dissertação, pela disponibilidade, pela paciência e pelo exemplo que é para mim.

Ao Dr. Carsten Dammert, por aceitar co-orientar a minha tese e por todos os ensinamentos que me transmitiu durante o estágio.

Ao Dr. Luís Fragoso, pela sua simpatia, disponibilidade e por todos os ensinamentos. Será sempre uma referência para mim.

À Dra. Maria Inês Romeiras, que mais que um exemplo, se tornou uma verdadeira amiga. Pela amizade, disponibilidade e paciência. Começou tarde, mas será certamente para a vida toda.

Ao Professor Telmo pela ajuda preciosa com a estatística e acima de tudo, pela paciência.

À Professora Magda pelo interesse prontamente demonstrado e por toda a ajuda que se revelou fundamental para o enriquecimento da minha dissertação.

Ao Senhor Barão, à Dona Gina e ao André, por me terem recebido da melhor forma possível na sua exploração.

À Eng^a Paula por tudo o que me ensinou e por estar sempre disponível para me ajudar.

Aos meus avós, por tudo o que aturaram durante esta fase e por serem sempre o meu maior pilar. São os melhores do mundo!

Aos meus pais, por tudo o que me transmitiram e por permitirem que este meu sonho se tornasse realidade.

Ao Diogo, pela confiança que depositou sempre em mim, por ter sido um suporte e por ter aturado os dias bons e os menos bons. Acredito que tens um lugar lá em cima.

Às minhas amigas que me acompanharam nestes seis anos de luta, Joana Domingues, Inês Bessa de Carvalho, Raquel Dourado, Bia Arroja, Madalena Cardoso, Ana Cristina Miranda,

Cláudia Beirão, Margarida Silva, Margarida Ferrador, Maria Sara Santos, Sara Calisto, Ana Margarida Seco, Joana Campino. Pela força, pelo caminho que construímos juntas e pelo apoio incondicional ao longo de todo o curso. Sem vocês, isto não seria possível!

Às minhas amigas de sempre, em especial à Susana, à Andreia e à Mariana, por me terem sempre apoiado e pela compreensão da minha ausência em grande parte da vossa vida social (prometo que vos irei recompensar!).

RESUMO

Estudo retrospectivo de índices reprodutivos em vacas frísias Holstein: análise preliminar da utilização de um protocolo de ressincronização de ovulação

O setor do leite atravessa uma grande crise na Europa devido nomeadamente ao fim das quotas leiteiras, à redução de importações, abrandamento do crescimento da economia chinesa. Em Portugal, apesar de excedentário na produção leiteira em natureza, o país importou vários milhões de euros em produtos lácteos. Os excedentes de produção estão relacionados com a diminuição do consumo *per capita* de leite em natureza que se tem observado nos últimos anos. De forma a ultrapassar algumas dificuldades, deverão ser adotadas várias medidas entre as quais, a melhoria dos parâmetros reprodutivos. Com este intuito, realizou-se o presente estudo, de modo a verificar se a introdução de um protocolo que permitisse a re-inseminação precoce a tempo fixo, seria vantajosa para a exploração. Para o estudo foram avaliadas 83 vacas do ano em que realizaram a inseminação artificial apenas quando detetadas em cio e 86 vacas do ano em que foi introduzido o protocolo de ressincronização da ovulação. Quando calculadas as medianas, registou-se uma diminuição de 45 para 17,5 dias abertos, verificando-se uma melhoria dos parâmetros reprodutivos. Após a aplicação da metodologia do orçamento parcial de substituição, constatou-se que a utilização do protocolo de ressincronização foi vantajosa para a exploração também a nível económico, tendo se obtido como benefício líquido de substituição um valor de 249,14€/vaca.

PALAVRAS-CHAVE

Bovinos; Frísia Holstein; Inseminação artificial; Ressincronização de ovulação; Parâmetros Reprodutivos

ABSTRACT

Retrospective study of reproductive indexes in Holstein Friesian cows: preliminary study of the use of a protocol for ovulation re-synchronization.

The milk sector is undergoing a major crisis in Europe due namely to the end of milk quotas, reducing imports and the slower growth of the Chinese economy. Despite a surplus in dairy production, Portugal imported several million euros in dairy products. The production surpluses are related with the decrease in milk consumption *per capita* that has been observed in the previous years. In order to overcome certain difficulties, several measures must be adopted, including the improvement of reproductive parameters. To achieve this purpose, the present study was carried out in order to verify if the introduction of a protocol that allows a fixed time artificial re-insemination would be advantageous for the dairy farm. In the present study, 83 cows were evaluated regarding the year in which the artificial insemination was performed only due to detection of oestrus, and another 86 cows were evaluated regarding the year of the introduction of the ovulation re-synchronization protocol.

When the medians were calculated, a decrease in the open days, from 45 to 17,5, was observed and was also attested an improvement in the reproductive parameters. After applying the methodology of the partial analysis budget, it was found that the application of the re-synchronization protocol was advantageous for the dairy farm, not only in terms of open days, but also economically, and a net benefit of substitution of 249,14 € *per cow* was obtained.

Key Words

Cattle; Holstein Friesian; artificial insemination; synchronization of oestrus; reproductive parameters

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	x
Relatório das atividades desenvolvidas ao longo do estágio	1
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Fisiologia Reprodutiva da Vaca.....	5
2.1.1. Estro	6
2.1.2. Metaestro	7
2.1.3. Diestro	7
2.1.4. Pró-Estro	7
2.1.5. Anestro	7
2.2 Dinâmica Folicular	8
2.2.1. Recrutamento	9
2.2.2. Seleção	9
2.2.3. Dominância	9
2.3. Maneio reprodutivo na exploração - a detecção de cios	10
2.3.1. Detecção visual do cio.....	12
2.3.2. Detetores de monta sensíveis à pressão	13
2.3.3. Marcadores de tinta.....	13
2.3.4. Sistemas eletrônicos de detecção de cio.....	13
2.3.5. Marcador <i>Chin-ball</i>	13
2.3.6. Pedómetros	14
2.3.7. Impedância elétrica intravaginal e vulvar	14
2.3.8. Alteração da temperatura intravaginal ou do leite	15
2.4. Luteogênese e Luteólise (maturação, ovulação e função do corpo lúteo)	15
2.5. Momento da Inseminação Artificial.....	16
2.6. Fatores que contribuem para a diminuição da taxa de concepção	17
2.7. A patologia pós-parto e a fertilidade.....	20
2.8. A mortalidade embrio-fetal.....	22
2.9. Protocolos de sincronização de estro.....	24
2.9.1. A utilização de GnRH.....	24
2.9.2. A administração de estradiol (E ₂)	25
2.9.3. A utilização de prostaglandina F ₂ alfa (PGF _{2α})	25
2.9.4. Indução da ovulação	26
2.9.5. Protocolos com recurso à progesterona (P ₄)	26
2.10. Biossegurança em vacas leiteiras.....	28

2.11.	Futuro do Médico Veterinário no manejo de bovinos leiteiros	30
2.12.	Métodos de análise económica	33
3.	TRABALHO EXPERIMENTAL	38
3.1.	Objetivo.....	38
3.2.	Material e Métodos	38
3.2.1.	A exploração.....	38
3.2.2.	Os animais.....	38
3.2.3.	O protocolo.....	39
3.2.4.	Valores a considerar no OPS	39
3.2.5.	Análise estatística.....	41
3.3.	Resultados	42
3.3.1.	Número de inseminações desde o diagnóstico de gestação (DG) negativo até à inseminação fecundante considerando-se, ou não, o Resynch	42
3.3.2.	Demonstração do cio no momento da IA	42
3.3.3.	Intervalo entre o DG negativo e IA fecundante.....	43
3.3.4.	Taxas de refugo e fertilidade	43
3.3.5.	Orçamento parcial de substituição.....	43
4.	Discussão/Conclusão	44
5.	BIBLIOGRAFIA	47
	ANEXOS.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fases de recrutamento, seleção e dominância em três ondas de crescimento durante um ciclo éstrico. (Adaptado de Aerts & Bols, 2010).....	10
Figura 2. Esquema do protocolo de ressincronização utilizado no estudo.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Cronograma do processo normal involução uterina (Adaptado de Navarre, 2007).	11
Tabela 2 Métodos de análise económica (Adaptado de Otte, MJ & Chilonda, P.,2001)	34
Tabela 3 Tabela explicativa de um orçamento parcial de substituição.	37
Tabela 4. Número de inseminações desde o diagnóstico de gestação negativo até à IA fecundante considerando-se, ou não, a utilização do Resynch.	42
Tabela 5. Registo das vacas que demonstraram, ou não, de sinais do cio no momento da IA.....	42
Tabela 6 Orçamento parcial de substituição para a exploração em estudo.	43
Tabela 7 Folha de registo dos dados recolhidos.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BEN- balanço energético negativo

CF- custo fixo

CL- corpo lúteo

CT- custo total

CV- custo variável

DG- diagnóstico de gestação

DL- dias de lactação

DX- - IAF – intervalo entre o diagnóstico negativo e a inseminação fecundante

E₂ – estradiol- 17_β

FSH- hormona folículo-estimulante

GnRH- gonadoliberina

hCG- gonadotrofina coriônica humana

IA- inseminação artificial

IADX- - número de inseminações artificiais desde o último diagnóstico negativo até à inseminação fecundante

IGF-1- fator de crescimento tipo insulínico 1

INSEM- inseminador

L- lucro

LH- hormona luteinizante

OPS- orçamento parcial de substituição

P- preço

P₄ - progesterona

PAC- política agrícola comum

PG- prostaglandina

PGF_{2α}, - prostaglandina 2α

PSPB- proteína B específica para bovinos

Q- quantidade

RT- receita total

UI- unidades internacionais

VFI- consumo voluntário de ração

Relatório das atividades desenvolvidas ao longo do estágio

O estágio constitui uma possibilidade de aplicar de forma prática todos os conceitos que nos foram transmitidos, no decorrer de cinco anos de formação, e o momento em que nos começamos a sentir recompensados por todos os esforços até aqui desenvolvidos. A oportunidade de estagiar com pessoas tão diferentes e apreciar abordagens diversas revelou-se crucial no meu crescimento académico e pessoal.

O estágio desenvolveu-se em duas componentes: a primeira, de âmbito curricular; e a segunda, do foro extracurricular. Inicialmente, ele decorreu na exploração leiteira Barão & Barão, Lda., sediada em Benavente, totalizando aproximadamente 700 horas. Durante este período, tive a oportunidade de acompanhar o Dr. Carsten Dammert e desempenhar diversas tarefas, nomeadamente na área da reprodução e cirurgia de espécies pecuárias (bovinos e caprinos), onde se incluíram diagnósticos de gestação, exames ginecológicos, resolução de partos distócicos, resolução cirúrgica de deslocamentos do abomaso e cesarianas. Participei e auxiliei no diagnóstico e tratamento de algumas patologias como endometrites, metrites, retenções placentárias, hipocalcémias pós-parto e ainda afeções do trato gastrointestinal e respiratório. No decorrer desta fase, foi-me possível acompanhar as rotinas do Dr. Aleh e da Eng. Paula e executar, essencialmente, tarefas de manejo, tais como a condução de animais entre parques, administração de colostro e aleitamento de vitelos e cabritos, identificação animal através da colocação de marcas auriculares e descorna.

Esta exploração foi alvo de visitas semanais por parte de docentes e alunos da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, em contexto das aulas práticas de Clínica de Espécies Pecuárias. Durante essas visitas, orientadas pelos Professores Doutores Ricardo Bexiga e Saraiva Lima e pela Dra. Patrícia, observei e participei no diagnóstico e tratamento de algumas patologias e na execução de algumas cirurgias como cesarianas e deslocamentos do abomaso.

A segunda componente do meu estágio decorreu na Vet Equilíbrio, Lda., empresa de prestação de serviços veterinários e teve uma duração de cerca de 400 horas. Durante este período tive a possibilidade de acompanhar o Dr. Luís Fragoso e a Dra. Maria Inês Romeiras, na clínica de animais de produção, bem como, a Dra. Andreia Castro, na clínica de animais de companhia. Foi um período bastante produtivo e envolveu imensa casuística, particularmente no sector dos animais de produção, onde observei e participei em diferentes áreas, nomeadamente na clínica, reprodução e cirurgia de espécies pecuárias. Na área da reprodução bovina, auxiliei em partos distócicos, na resolução de prolapsos vaginais e uterinos e, participei no acompanhamento reprodutivo de vacadas, através de diagnósticos de gestação e exames ginecológicos, o que me

permitiu adquirir algumas competências na área da ecografia e da palpação transretal. Observei e participei ainda na realização de exames andrológicos de bovinos, o que se revelou fundamental para me familiarizar com a técnica de recolha de sémen por eletroejaculação e com a palpação transretal de machos. Na área da clínica bovina, destaco alguns casos como o tratamento de acidoses ruminais, diarreias neonatais, artrites sépticas, claudicações e abscessos. Na clínica de pequenos ruminantes, observei essencialmente problemas podais, diarreias, acidoses e timpanismo. Os trabalhos realizados com equinos consistiram em ações de profilaxia e identificação, resolução de claudicações, cólicas e pneumonias. Na área da cirurgia, foi-me possível participar na remoção de papilomas, resolução de hérnias inguinais, cesarianas, deslocamentos de abomaso e orquiectomias.

Na clínica dos animais de companhia, tive a oportunidade de participar em algumas cirurgias, como orquiectomias, ovário-histerectomias e cesarianas e, de acompanhar diversos casos clínicos, o que me permitiu desenvolver competências de diagnóstico, terapêutica e prognóstico das diferentes patologias.

Durante este estágio participei ainda na rotina diária da brigada sanitária nº1 do ADS do Baixo Tejo, onde o Dr. Luís Fragoso desempenha as funções de médico-veterinário coordenador e executor. Tive, então, a oportunidade de executar diversas tarefas, entre as quais vacinação, desparasitação e colheita de sangue para pesquisa de Brucelose.

Concluindo esta etapa, é de referir que os estágios se revelaram extremamente importantes, tanto na aplicação dos conceitos apreendidos até agora, como na melhoria da capacidade de comunicação com os clientes, uma vez que um défice da mesma se poder tornar numa enorme barreira na nossa profissão.

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos tem se verificado uma diminuição significativa do número de pequenos produtores leiteiros assim como, um aumento da dimensão média das explorações, mantendo-se os valores de produção relativamente estáveis (CEGEA, 2012). A Política Agrícola Comum (PAC) assume um papel fundamental na gestão do setor do leite, contudo, tem vindo a reduzir a sua intervenção direta e indireta ao longo da última década. O setor do leite foi dos mais afetados pelas reformas da PAC realizadas em 1998 e 2003 devido à crescente pressão para terminar com os gastos excessivos e ineficiência na agricultura. O sistema de quotas leiteiras foi introduzido no ano de 1984 de forma a controlar os excedentes e a garantir preços aos produtores. Desde então que se tem vindo a assistir a uma sucessiva diminuição em termos a receção de apoios, com o desligamento entre subsídios e produção, redução da intervenção, modulação, eliminação de quotas, introdução de requisitos ambientais, etc. (CEGEA, 2012). As quotas são vistas pela Organização Mundial do Comércio como práticas pouco consistentes com a liberalização de mercados. São medidas protecionistas que tendem a gerar ineficiência nos mercados agrícolas. Após negociações no âmbito da Organização Mundial do Comércio, avançou-se para a redução de várias práticas protecionistas aplicadas pela União Europeia no mercado do leite como tarifas, subsídios à exportação, intervenção e quotas (CEGEA, 2012). A produção leiteira tem vindo a sofrer uma problemática crise de preços baixos e limitações de produção que se iniciou pouco tempo após o fim das quotas leiteiras em 2015 e atingiu o ponto crítico em 2016. As responsabilidades desta crise foram atribuídas à diminuição do consumo de leite, ao embargo russo e às dificuldades económicas dos países para onde se exportava. Contudo, a maioria dos países tem vindo a recuperar os preços, contrariamente a Portugal. A indústria justificou o baixo preço do leite e os limites da produção com a importação de leite e de produtos lácteos por parte das grandes superfícies (Aprolep, 2017). É urgente a tomada de medidas que contrariem esta situação. De modo a superarem-se algumas das dificuldades, devem ser adotadas medidas como: a utilização de regimes alimentares que potenciem a produção leiteira mas que também potenciem a redução do custo unitário do leite produzido, por exemplo, a utilização de forragem produzida pela própria exploração de modo a diminuir os custos com a alimentação; a melhoria de parâmetros reprodutivos de forma a diminuir o número de dias abertos; um melhor controlo das mamites que são responsáveis por uma diminuição na produção diária de leite e da bonificação atribuída; a engorda de vitelos machos até cerca dos 10-12 meses que deverão ser alimentados com os restos das manjedouras de vacas em produção; a recria de novilhas para venda, podendo os investimentos que têm sido feitos

em genética vir a ser rentabilizados quando Portugal se vier a assumir como um país exportador de genética; o apoio técnico mais especializado, que deve ser visto como um investimento e não como uma despesa. É de salientar ainda a importância da sustentabilidade em termos ecológicos de forma a reduzir o impacto negativo na pegada ecológica. A melhoria da eficiência no sistema de produção leiteiro conduzirá a melhorias ambientais e económicas. É importante reduzir a quantidade de azoto sintético dos adubos e fertilizantes, utilizados para a produção de alimento para os animais, de modo a diminuir a emissão de gases de efeito de estufa.

O presente estudo realizou-se com o intuito de verificar se a aplicação de um programa de ressincronização da ovulação seria, ou não, vantajosa numa exploração de bovinos leiteiros quando comparada com o modelo anteriormente utilizado, baseado apenas na deteção do cio. Pretendeu-se, deste modo, verificar os benefícios que esta alteração traria tanto a nível de parâmetros reprodutivos como de parâmetros económicos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Fisiologia Reprodutiva da Vaca

O controlo neuro-endócrino do ciclo éstrico envolve a integração de variados sinais reguladores que formam uma rede que permite o controlo da libertação de gonadotrofinas necessárias ao desenvolvimento folicular, esteroidogénese e ovulação. Através da estimulação da gonadoliberina (GnRH), ocorre a síntese e libertação da hormona folículo-estimulante (FSH) e da hormona luteinizante (LH) que atingem as gónadas através da circulação sanguínea e atuam no ovário de forma a estimular o crescimento e maturação do folículo, ovulação do folículo pré-ovulatório e síntese de hormonas esteróides e peptídicas ováricas. As hormonas ováricas exercem ações de “feedback” ao nível central e adeno-hipofisário que controlam a libertação de GnRH e das gonadotrofinas (Hopper, 2014).

A duração do ciclo éstrico varia entre 17 a 24 dias, sendo em média de 21 dias. Vulgarmente, refere-se o dia 0 como sendo o dia em que a fêmea exhibe o comportamento de cio. O estro é induzido por um aumento das concentrações de estradiol-17 β (E₂), associado a esteroidogénese folicular aumentada durante o desenvolvimento folicular (Hansel & Convey, 1983). A elevação das concentrações de E₂ atinge um limiar, 12 a 18 horas antes do início do estro, desencadeando um pico pré-ovulatório de GnRH e um consequente aumento na libertação de gonadotrofinas (Rahe, Owens, Fleeger, Newton & Harms, 1980). O pico pré-ovulatório de LH coincide geralmente com o início do estro. A ovulação ocorre cerca de 30 horas após o início do estro e é seguida de um brusco declínio nas concentrações circulantes de E₂. Após a ovulação, as células foliculares transformam-se em células lúteas, que sintetizam e libertam progesterona (P₄) (Hansel & Convey, 1983). Durante a formação e maturação do corpo lúteo (CL), as concentrações de P₄ aumentam gradualmente até atingirem o seu pico cerca de 8 dias após a ovulação. O período de dominância desta hormona é definido como a fase lútea do ciclo éstrico. Durante esta fase, as concentrações circulantes de LH são relativamente baixas dado ser pouco frequente a libertação de LH. Por oposição, as concentrações de FSH e E₂ aumentam em associação com as ondas de crescimento e atresia foliculares. Por volta do dia 17 do ciclo éstrico, os pulsos luteolíticos de PGF_{2 α} , libertada pelo endométrio, são responsáveis pela regressão lútea e consequente diminuição das concentrações circulantes de P₄ (Hansel & Convey, 1983). O período caracterizado por baixas concentrações desta última hormona, e por um desenvolvimento folicular é denominado de fase folicular. Durante a fase lútea, a frequência de libertação de GnRH e os picos correspondentes de LH é de aproximadamente um pico a cada

4 a 6 horas enquanto que, na fase folicular, é aumentada para, aproximadamente, um pico por hora (Rahe et al., 1980; Gazal et al., 1998). A libertação da LH é essencial para o desenvolvimento e maturação do folículo, assim como, para o aumento da síntese de hormonas esteróides. O aumento das concentrações circulantes de E_2 na fase folicular tardia conduz ao pico pré-ovulatório de GnRH.

Em termos gerais, a puberdade pode ser definida como o processo em que os animais se tornam capazes de reproduzir (Robinson, 1977).

Na puberdade, as concentrações plasmáticas de P_4 indicam atividade ovárica cíclica antes da primeira observação de estro (Donaldson, Bassett & Thorburn, 1970). Assim, esta fase é referida como o primeiro dia que a P_4 sérica excede 1ng/mL (Jones, Armstrong & Harvey, 1991). Quando referente a novilhas, a puberdade está relacionada com o primeiro estro que é seguido de uma fase lútea normal (Moran, Quirke & Roche, 1989). Tudo isto envolve uma série complexa de interações de fatores genéticos e ambientais que conduzem a reações endócrinas que culminam na puberdade. Neste tipo de fêmeas, a puberdade é desencadeada pela perda da sensibilidade do eixo hipotálamo-hipofiso-gonadal aos efeitos do “feedback” negativo do E_2 , o que permite a ocorrência de um pico de LH (Moran et al., 1989). Atualmente, aceita-se que a puberdade e a primeira ovulação não são necessariamente coincidentes, já que podem ocorrer ovulações silenciosas e fases lúteas de curta duração, durante a fase pré-púbere (Moran et al., 1989).

Usualmente, as diferentes fases do ciclo éstrico encontram-se divididas (Ball & Peters, 2007):

- Estro (dia 0)
- Metaestro (dias 1-4)
- Diestro (dias 5-17)
- Pró- Estro (dias 18-20)

2.1.1. Estro

Corresponde ao dia 0 e ao período de aceitação do macho, sendo a única fase rapidamente identificável. As glândulas do endométrio e do cérvix aumentam a sua actividade secretora e a quantidade de muco é também maior; o endométrio e epitélio vaginal encontram-se significativamente hiperémicos, congestionados e o cérvix relaxa, tornando o canal cervical mais patente. Cerca de 12h após o final do cio, ocorre a ovulação (Ribeiro, 2015). O comportamento exterior de cio é exibido durante 6 a 30 horas, apresentando uma duração média de, aproximadamente, 7 horas. Este período está dependente de vários fatores, dos quais se destacam a idade e a estação do ano e, observa-se também, um padrão noturno quando que as

fêmeas bovinas parecem exibir, preferencialmente, os comportamentos de cio (Ball & Peters, 2007). O principal sinal de cio é o reflexo de imobilização, quando a fêmea se deixa montar por outras companheiras ou pelo toiro. Vocalizações repetidas, montas a outras fêmeas e inquietude/nervosismo são também indicações de que o animal poderá estar em cio. Pode observar-se igualmente, a vulva edemaciada e hiperémica. Por vezes, observa-se a presença de um muco espesso e transparente pendente na vulva (Ball & Peters, 2007).

2.1.2. Metaestro

É o período que sucede ao cio, correspondendo aos dias 1 a 4 do ciclo. Após a ovulação, que ocorre nesta fase, as células da granulosa e da teca interna do folículo ovulado reorganizam-se e transformam-se em células lúteas dando origem, numa fase inicial, ao corpo hemorrágico que, ao fim de cerca de 5 dias, se transforma num corpo lúteo funcional. Nesta fase, verifica-se uma diminuição das secreções uterinas, cervicais e vaginais (Noakes, Parkinson & England, 2001).

2.1.3. Diestro

Corresponde ao período lúteo e prolonga-se do dia 5 ao dia 17. Durante esta fase, as glândulas do endométrio atrofiam, o cérvix contrai-se e as secreções diminuem de volume e aumenta a sua viscosidade. A mucosa vaginal torna-se pálida e o corpo lúteo (CL) é funcional e segrega quantidades crescentes de progesterona (P_4) (Noakes et al., 2001; Ribeiro, 2015).

2.1.4. Pró-Estro

Diz respeito ao período que antecede o cio, ou seja, dias 18 a 20 do ciclo. É a fase em que se verifica, em simultâneo, crescimento folicular e a regressão do corpo lúteo do ciclo anterior. As glândulas secretoras do endométrio apresentam aumento de atividade encontrando-se o mesmo bastante congestionado. A mucosa vaginal torna-se hiperémica e as células epiteliais superficiais iniciam o processo de cornificação (Noakes et al., 2001).

2.1.5. Anestro

O anestro corresponde à falta de expressão dos sinais de cio, caracterizando-se geralmente por uma falha na produção de progesterona ovárica (Peter, Vos & Ambrose, 2009). Historicamente, o anestro foi classificado como fisiológico ou patológico, sendo que o último pode ser subdividido em ovulação silenciosa, doença ovárica quística, hipofunção ovárica e corpo lúteo persistente (Mwaanga & Janowski, 2000). No anestro tipo I, há crescimento de folículos para emergência sem o estabelecimento de um folículo dominante. A fisiopatologia desta condição

não está bem esclarecida, mas presume-se que se deva a condições extremas de desnutrição. Esta situação juntamente com o balanço energético negativo podem conduzir àquela condição por falta de LH para suportar o crescimento e dominância foliculares (Jolly, McDougall, Fitzpatrick & Macmillan, 1995).

Ovários associados a este tipo de anestro são frequentemente designados por “ovários inativos” (Fielden, Harris, Shrestha & Macmillan, 1980). No anestro tipo II, há desvio e crescimento, seguido de atresia ou regressão. Em alguns casos, esta apenas ocorre após um folículo atingir um estado de dominância. A regressão deste folículo resulta no aparecimento de uma nova onda folicular, 2 a 3 dias mais tarde (Peter et al., 2009). Alguns folículos crescem mais e regridem, antes da primeira ovulação (McDougall, Burke, Macmillan & Williamson, 1995). No anestro tipo III, há desvio, crescimento e estabelecimento de um folículo dominante, mas este não consegue ovular e acaba por tornar-se numa estrutura folicular persistente (Peter et al., 2009). Estas estruturas foliculares persistentes podem tornar-se quistos foliculares ou quistos luteínicos que, por sua vez, podem regredir ou persistir como uma estrutura anovulatória. O anestro tipo IV ocorre devido a uma fase lútea prolongada. Estas fêmeas têm normal ovulação e formação de um corpo lúteo com função prolongada devido à ausência de regressão. Um fator que contribui para essa fase lútea prolongada pode ser a falta de um folículo dominante que produza estrogénio na altura do que deveria ser a fase de regressão. Têm sido sugeridos outros fatores como responsáveis pelo aumento de risco de fase lútea prolongada como a paridade, distócia, problemas de saúde durante o primeiro mês de lactação, stress hipertérmico e possivelmente, uma ovulação precoce após o parto (Peter et al., 2009).

2.2 Dinâmica Folicular

Da reserva de folículos primordiais, formados durante a vida fetal ou pouco depois do nascimento, alguns continuam a crescer e não deixam de fazê-lo durante toda a vida ou até que a reserva se esgote. Quando algum folículo sai desta reserva, continua a crescer até à ovulação ou até degenerar, o que ocorre com a maioria dos folículos. O folículo de maior tamanho encarrega-se da secreção da maior quantidade de estrogénio, pelo ovário durante o estro, a qual diminui rapidamente com o pico pré-ovulatório da hormona luteinizante (LH). A vaca ovula, por norma, apenas um folículo, o qual pode ser identificado através das suas dimensões cerca de 3 dias antes do início do estro, quando há um ou dois folículos de grandes dimensões nos ovários (Hafez, 2000).

O desenvolvimento folicular caracteriza-se por duas a três ondas de crescimento folicular, podendo também verificarem-se situações de fêmeas com uma ou quatro ondas (De Rensis & Peters, 1999). A primeira onda inicia-se logo no dia da ovulação (dia 1), a segunda onda surge aos dias 9-10 e a terceira nos dias 15-16 (De Rensis & Peters, 1999). Em cada onda, vários folículos são recrutados e submetidos a uma seleção sendo que apenas um deles se torna dominante. As ondas de crescimento folicular podem também ocorrer no período pré-púbere, durante a gestação, no pós-parto, na lactação e em situação de anestro. Cada onda de crescimento folicular pode ser subdividida por fases: recrutamento, seleção e dominância (Aerts & Bols, 2010).

2.2.1. Recrutamento

Implica que uma coorte de folículos antrícos escape à apoptose devido à elevação dos níveis de FSH circulante. Durante esta fase, todos os folículos apresentam recetores para a FSH sendo dependentes desta para o seu crescimento. Na fêmea bovina, uma coorte de folículos em desenvolvimento consiste normalmente em 5 a 10 folículos (Driancourt, 2001), mas pode atingir os 24 (Mihm & Austin, 2002).

2.2.2. Seleção

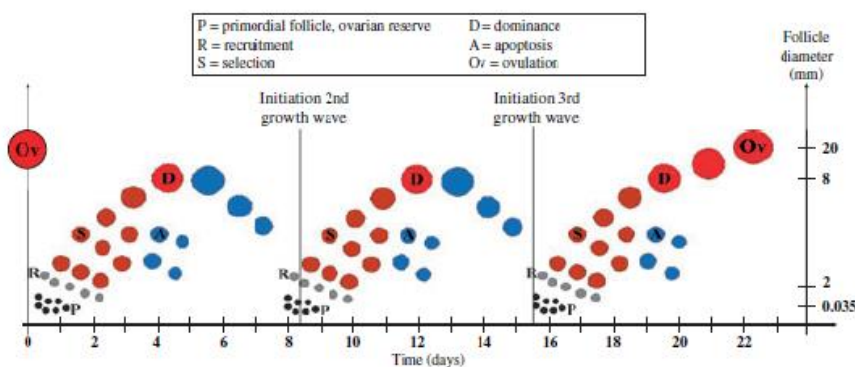
Os folículos em desenvolvimento são sujeitos um processo de seleção em que um deles cresce mais rapidamente e os restantes sofrem uma regressão. A produção e secreção de inibina e estradiol (E_2) pelo folículo dominante resulta na supressão de libertação de FSH, que seria necessária para o crescimento dos restantes folículos. O folículo dominante adquire recetores de LH que permitem o seu crescimento num ambiente com níveis basais de FSH e crescentes de LH. Porém, alguns trabalhos sugerem que folículos com 3mm de diâmetro não suprimem a secreção de FSH, mas adquirem essa capacidade quando atingem os 5mm (Gibbons, Wiltbank & Ginther, 1999).

2.2.3. Dominância

Quando o folículo atinge 8,5mm de diâmetro, sofre uma diferenciação relativamente aos restantes folículos, processo designado por divergência (Beg & Ginther, 2006). Antes desta ocorrer, todos os folículos podem-se tornar dominantes. Contudo, após a mesma, apenas o maior folículo se desenvolve acabando os restantes por regredirem. Estima-se que o folículo dominante passe por um período de transição em que deixa de depender de FSH e passa a depender de LH, continuando a amadurecer apesar dos baixos níveis de FSH (Mihm et al., 2006).

Os folículos ovários sofrem alterações degenerativas durante as quais perdem a sua integridade. Essa perda ocorre com maior frequência nos estádios avançados do crescimento folicular. A atresia está associada a várias alterações morfológicas, bioquímicas e histológicas que variam muito com o estágio do crescimento, bem como, com a espécie animal. A degenerescência é acompanhada pela perda do oócito, das células da granulosa e dos receptores para várias hormonas. Vários são os fatores que regulam a atresia folicular, destacando-se, a idade, o estágio do ciclo reprodutivo, a gestação, a lactação, o equilíbrio entre estrógenos e andrógenos de fontes extra- ou intra-ovárias, o programa genético, a nutrição e a isquemia. Podem existir vários processos e mecanismos de atresia, dependendo do estágio do crescimento folicular. A taxa de regressão dos folículos é influenciada por alguns tratamentos hormonais. A capacidade de um folículo em desenvolvimento produzir elevadas concentrações de estrógenos, que estimulam o crescimento e a diferenciação celular da granulosa, é fundamental na seleção de um determinado folículo para a maturação e a ovulação. A interrupção da produção de estrogênio em qualquer etapa resulta na atresia dos folículos (Hafez, 2000).

Figura 1 Fases de recrutamento, seleção e dominância em três ondas de crescimento durante um ciclo estrico. (Adaptado de Aerts & Bols, 2010).



2.3. Maneio reprodutivo na exploração - a detecção de cios

Dos fatores que determinam o desempenho reprodutivo de uma exploração leiteira, destacam-se o período voluntário de espera, a taxa de concepção e as perdas gestacionais. O período voluntário de espera é definido como o período necessário para as vacas recuperarem da infecção uterina que se instala após o parto, para alcançarem novamente um balanço energético positivo e para retomarem a ciclicidade. As maiores dificuldades encontram-se no controle do grau de hipocalcemia e do balanço energético negativo que impedem uma resposta imunitária eficaz

contra os micro-organismos uterinos. Alguns estudos indicam que as baixas concentrações de cálcio, nos primeiros 7 dias pós-parto, estão associadas a um aumento na incidência de metrites (Ribeiro et al., 2011). O balanço energético negativo é responsável pela redução da frequência dos pulsos de LH, prejudicando desta forma a maturação do folículo (Hopper, 2014).

O período de tempo que tem início 3 semanas antes do parto e se estende até às 3 semanas de lactação é, frequentemente, designado por período de transição. Este período pode ter um grande impacto na vaca leiteira devido às alterações metabólicas e hormonais que entretanto ocorrem (Navarre, 2007).

A Tabela 1 pretende esclarecer o processo normal de involução uterina (Navarre, 2007):

Tabela 1 Cronograma do processo normal involução uterina (Adaptado de Navarre, 2007).

1-8 dias	Boa tonicidade/firmeza; rugoso, rápida diminuição de tamanho; lóquias espessas/gelatinosas e em grande volume.
8-10 dias	Com um pouco de esforço, é possível a palpação transretal; possível flutuação no corno pré-gravídico.
10-18 dias	Menor flutuação; colo do útero de menores dimensões; lóquias mucopurulentas e de menor volume.
18-30 dias	Tonicidade uterina aumentada, coincidente com a primeira ovulação; corno pré-gravídico encontra-se a cerca de 1cm do corno contralateral; podem observar-se corrimentos mucosos, ocasionalmente com pús.
40 dias	O útero involuiu mais rapidamente do que o colo do útero: - Primíparas: cérvix com aproximadamente, 25-30mm de diâmetro; - Multíparas: cérvix com aproximadamente, 30-45mm de diâmetro

O planeamento é primeiro passo para o sucesso de uma exploração, deve centrar-se nos objetivos do cliente salientando-se a colaboração com o Médico Veterinário de forma a garantir que os objetivos são apropriados e exequíveis. Uma abordagem em equipa poderá ser vantajosa, recorrendo-se a alguns especialistas qualificados, nomeadamente na área da nutrição e da gestão (Weinand & Conlin, 2003). Torna-se importante a identificação dos pontos fortes e fracos, oportunidades e ameaças da exploração, no momento. O recurso a dados de anos anteriores facilita a fixação de objetivos. Estes devem ser específicos para cada exploração e devem ser “SMART”: específicos, mensuráveis, atingíveis, relevantes e limitados no tempo (Sheldon, Wathes & Dobson, 2006).

Para uma satisfatória recolha e avaliação de dados é necessária, em primeiro lugar, uma identificação rigorosa de todos os animais. Por outro lado, é importante que a análise dos dados recolhidos se faça com alguma frequência de modo a permitir intervenções adequadas e oportunas.

As visitas regulares a uma exploração para o controlo reprodutivo são fundamentais para a melhoria dos resultados do produtor. Deve ser inicialmente acordado um protocolo que explicita o tipo de procedimentos a executar que poderá, eventualmente, vir a ser reajustado. Em regra, o primeiro exame é realizado 21-30 dias pós-parto e a vaca volta a ser reexaminada, se não for inseminada nos 24 dias que se seguem ao fim do período voluntário de espera. O exame deve ser completo e deve incluir a avaliação da condição corporal, exame do estado geral, palpação transretal e/ou ultrassonografia e exame vaginal. Devem ser registadas individualmente todas as ações praticadas, bem como, todos os diagnósticos realizados (Sheldon et al., 2006). Estão a ser desenvolvidos, em linhas de leite, detetores para moléculas como a P₄ de forma a determinar a função do corpo lúteo no ovário e monitorizar o ciclo éstrico e a gestação (Pemberton, Hart & Mottram, 2001). Uma técnica bastante precisa para o diagnóstico de gestação através do plasma sanguíneo é a medição da Proteína B específica para bovinos (PSPB) (Sasser, Crock & Ruder-Montgomery, 1989; Szenci et al., 1998).

A ineficiência reprodutiva constitui uma das principais preocupações de gestão em empresas de carne ou de leite. O recurso à inseminação artificial (IA) tornou essencial que todos os trabalhadores se familiarizem com as características do estro e métodos para a deteção do mesmo. São fundamentais práticas corretas de forma a garantir a manutenção ou a melhoria da eficiência reprodutiva quando se utiliza a IA.

2.3.1. Deteção visual do cio

Geralmente, nas explorações leiteiras, as vacas podem ser observadas durante o seu maneio e quando se deslocam de e para a sala de ordenha (Hopper, 2014). É importante tentar não as perturbar, nem interromper o comportamento de monta. O uso de binóculos poderá revelar-se bastante útil. O início do comportamento de cio ocorre geralmente durante um período de 4 a 24 horas, mostrando-se as fêmeas inquietas e nervosas. As fêmeas tendem a exibir movimentos com a cauda, a andar com as caudas elevadas e a mostrar uma secreção mucosa, espessa e clara na vulva (Hopper, 2014). O sinal mais evidente de cio é a monta e o consequente reflexo de imobilização. Estes animais exibem geralmente sinais de inquietação e permanecem muitas vezes de pé durante todo o dia, podendo também exibir sinais de vocalização e redução de

apetite. Nas vacas leiteiras, uma diminuição na produção de leite poderá indicar que a fêmea está em cio ou próximo dele (Hopper, 2014).

Existem vários auxiliares de detecção de cio no mercado que complementam a observação visual, mas não a substituem.

2.3.2. Detetores de monta sensíveis à pressão

Consistem em dispositivos de plástico que são colocados na zona da garupa da fêmea que contém um pequeno recipiente com um líquido colorido que se quebra quando é aplicada uma pressão, como acontece quando uma vaca é montada por outra. No entanto, estes marcadores podem ser acidentalmente activados, devendo-se, por isso mesmo, associar sempre, outros sinais de cio. Dois exemplos desses detetores são Kamar® e Bovine Beacon® (Hopper, 2014).

2.3.3. Marcadores de tinta

Aplica-se na base da cauda da vaca cujo cio se pretende detectar, uma espessa camada de cera colorida, lápis de cor, pasta ou tinta. Quando o animal é montado, a marcação alastra-se pelas zonas laterais da cauda e garupa. É importante associar outros sinais de cio a este método (Hopper, 2014).

2.3.4. Sistemas eletrónicos de detecção de cio

O sistema HeatWatch® baseia-se na medição de pressão que é aplicada a um pequeno transmissor que é fixado na região da base da cauda. Os transmissores estão programados de forma a conseguir identificar os animais e a altura em que começaram a exibir comportamentos de cio. Este sistema pode ser bastante útil quando existem limitações na detecção visual de cio. Contudo, é um investimento caro e podem existir alguns problemas com a transmissão de sinal (Hopper, 2014).

2.3.5. Marcador *Chin-ball*

O marcador Chin-ball consiste num cabeção de couro que se coloca no animal marcador e contém duas esferas com reservatórios de tinta. Conforme vai montando as vacas que se encontram em cio, vai deixando uma marca de tinta. Normalmente, ele é um toiro incapacitado

para a cópula. Estes animais são denominados de rufiões. No entanto, também se podem utilizar animais tratados hormonalmente. Estes toiros apresentam alguns inconvenientes uma vez que, podem perder o seu desejo sexual ou ficar especialmente interessados numa vaca, ignorando outras que estão em cio (Hopper, 2014).

Nos métodos automáticos de deteção de cio incluem-se: os pedómetros; a impedância eléctrica intravaginal e vulvar; o aumento de temperatura intravulvar e do leite.

2.3.6. Pedómetros

O número de passos por hora das vacas em cio é cerca de duas a quatro vezes superior ao de vacas em diestro (Kiddy, 1977), sendo esta a base para a utilização de pedómetros e a sua eficiência é de 60 a 100% (Schofield, Phillips & Owens, 1991). O recurso a esta tecnologia é mais eficaz em comparação com as duas observações por dia, mas igualmente eficaz a quatro. A precisão do uso do pedómetro varia entre 22 e 100%. Aos baixos níveis de precisão (devido a elevados falsos-positivos) foram atribuídas a limitações técnicas dos pedómetros a condições ambientais desfavoráveis ou instáveis. O seu uso sob condições favoráveis resultou em taxas de 91% de eficiência e 92% de precisão (Lehrer, Lewis & Aizinbud, 1992).

2.3.7. Impedância eléctrica intravaginal e vulvar

O pró-estro está associado a um aumento da hidratação da genitália quando comparada com a do diestro. A hidratação tecidual relaciona-se inversamente com a impedância, sendo esta a base da deteção de cio por monitorização da impedância eléctrica intravaginal e vulvar (resistência à passagem da corrente eléctrica). A impedância é medida através de uma sonda inserida no lúmen vaginal (Lehrer et al., 1992) ou de eléctrodos colocados no tecido vulvar (Lewis, Aizinbud & Lehrer, 1989; J. W. Smith, Spahr & Puckett, 1989). Verificou-se que na maioria dos casos, tanto a impedância eléctrica intravaginal como a vulvar diminuem no estro. Existem algumas limitações a este método, com alguns autores a subvalorizar esta técnica argumentando que poderão haver alterações significativas entre animais (Lewis et al., 1989).

2.3.8. Alteração da temperatura intravaginal ou do leite

Foram registadas elevações da temperatura intravaginal de 0,3 a 1,1°C perto do estro e 12 a 21h antes da ovulação (Clapper, Ottobre, Ottobre & Zartman, 1990; Mosher, Ottobre, Haibel & Zartman, 1990). No entanto, existem outros estudos em que não foi possível identificar aumentos de temperatura intravaginal relacionados com o estro (Lehrer et al., 1992). Em outros ensaios, registaram-se aumentos da temperatura do leite de cerca de 0,2 a 0,4°C em 35 a 74% dos períodos de estro (Schlünsen, Roth, Schön, Paul & Speckmann, 1987; Maatje & Rossing, 1997; . A eficiência de deteção ronda os 50% e a precisão os 55% (Schlünsen et al., 1987). A monitorização frequente de variações nas temperaturas poderá ser um auxiliar na deteção do estro. Contudo, não deve ser utilizado como único método de deteção (Lehrer et al., 1992).

2.4. Luteogénese e Luteólise (maturação, ovulação e função do corpo lúteo)

A maturação do oócito compreende um período de crescimento e um período final de preparação nuclear e citoplasmática, que constitui um pré-requisito para a fecundação e desenvolvimento normais (Hafez, 2000).

Quando um folículo primordial sai da reserva, começa a crescer com o oócito, estando o desenvolvimento deste último quase completo no momento da formação do antro. Através de processos celulares, as células internas do *cumulus* cooperam ativamente, de forma a alcançar o crescimento do oócito já que estabelecem contato com a membrana celular do mesmo (Hafez, 2000).

Nos mamíferos, os pulsos pré-ovulatórios da LH são de extrema importância para a maturação do folículo, bem como para a ovulação. No começo do ciclo, em resposta ao pico de LH, o folículo produz prostaglandinas da série E que se revelam cruciais na rutura do folículo e libertação do oócito no espaço peri-ovárico (Filion, Bouchard, Goff, Lussier & Sirois, 2001). Presume-se que a LH estimula e prepara as células da granulosa e da teca para a luteinização (Smith, McIntush & Smith, 1994). São necessários pulsos episódicos de LH para a formação do corpo lúteo, que não são os mesmos, necessários para a sua manutenção. A frequência pulsátil típica da LH durante o ciclo éstrico é: 9-16 pulsos a cada 24h, no início da fase lútea; 6 pulsos a cada 24h, na fase lútea média; 14-24 pulsos a cada 24h, durante a fase folicular (Cupp et al., 1995; Ginther, Bergfelt, Kulick & Kot, 1998; Mihm & Austin, 2002). O primeiro folículo dominante do ciclo surge enquanto o corpo lúteo está ainda ativo. Esta estrutura afeta de forma negativa a frequência pulsátil da LH, através da secreção de progesterona, o que resulta na sua

redução, na fase lútea média e, na atresia do folículo dominante dependente da LH. A luteólise, durante a fase de domínio do segundo folículo dominante, resulta na ovulação do mesmo. No entanto, se o corpo lúteo permanecer ativo, a secreção de progesterona e a subsequente supressão de LH conduzirá à regressão do segundo folículo dominante. O folículo dominante apenas beneficia da elevação da frequência pulsátil da LH durante a fase folicular, o que promoverá a sua maturação e, por fim, a ovulação (Mihm & Austin, 2002).

Na ausência de fertilização ou por incapacidade do embrião sinalizar a sua existência no útero, o CL deve regredir de forma a possibilitar a ocorrência de um novo estro (Milvae, 2000; Webb, Woad & Armstrong, 2002). Durante o processo de lise ou regressão do CL, o tecido lúteo sofre mudanças bruscas na capacidade esteroideogénica, vascularização e remodelação, o que resulta na substituição da glândula por tecido conjuntivo (Stocco, Telleria & Gibori, 2007). Deste modo, a luteólise espontânea pode ser dividida em duas fases (Stocco et al., 2007; Skarzynski, Ferreira-Dias & Okuda, 2008): a luteólise funcional, associada a um acentuado decréscimo na secreção de P4, e a luteólise estrutural, que ocorre após o início do declínio da P4 e é determinada pela apoptose celular do CL até à formação do *corpo albicans*.

2.5. Momento da Inseminação Artificial

Nos efectivos bovinos leiteiros, uma melhoria da taxa de fertilidade requer métodos de IA adequados. Existem várias metodologias para a IA em bovinos: inseminação no corpo uterino, inseminação intracornual bilateral, inseminação intracornual profunda e inseminação intrafolicular. A abordagem mais comum consiste na utilização da técnica retovaginal para depositar o sêmen no corpo do útero. Este processo requer alguma habilidade e treino. Um desconhecimento da anatomia genital da fêmea bovina, assim como das relações funcionais dos vários órgãos do sistema reprodutor podem conduzir a um mau desempenho técnico.

A deteção adequada do estro é fundamental para o sucesso da IA. Nas vacas leiteiras, a ovulação ocorre aproximadamente 28-32 horas após o início do estro (Walker, Nebel & McGilliard, 1996). Estima-se que o período fértil do ócito seja de 6 a 12 horas, após a ovulação (Brackett, Oh, Evans, & Donawick, 1980) e que a vida útil dos espermatozóides no trato reprodutivo seja de 24 a 30 horas (Senger, 1994). Pode concluir-se então, que a janela de oportunidade é bastante reduzida para uma fertilização de sucesso. Durante muito tempo, os investigadores procuraram determinar a altura ideal para inseminar as vacas. Inicialmente, começaram por enunciar a regra “A.M.-P.M.” que estabelece que a fêmea bovina em cio durante a manhã deverá ser inseminada durante a tarde, enquanto a observada em cio durante a tarde deve ser inseminada na manhã seguinte. No entanto, outros ensaios referem que as taxas máximas de concepção podem não ser

alcançadas seguindo-se esta regra. Uma ineficácia na deteção dos cio pode afetar o sucesso quando a IA é realizada com base nessa regra “A.M.-P.M.”. Há trabalhos que demonstraram igualmente, que as taxas de concepção mais elevadas após a IA, ocorreram entre as 4 e as 12 horas, após o início do cio (Trimberger, 1993).

2.6. Fatores que contribuem para a diminuição da taxa de concepção

Durante o verão, verifica-se um declínio significativo da fertilidade associada a um aumento dos níveis de “stress” pelo calor (Gangwar, Branton & Evans, 1965; Wolfenson, Roth & Meidan, 2000; De Rensis & Scaramuzzi, 2003; Dash et al., 2016). Animais sujeitos a temperaturas ambientais elevadas revelam subfertilidade, maior número de fêmeas em anestro e um aumento do número de dias em aberto e de perdas do concepto (De Rensis & Scaramuzzi, 2003). Alguns estudos indicam que durante os períodos de maior calor, há uma redução de 20-30% nas taxas de concepção (Cavestany, El-Wishy & Foote, 1985) e de gestação (Amundson, Mader, Rasby & Hu, 2006). O “stress” hipertérmico possui um maior impacto negativo no período entre os 21 dias que antecedem a beneficiação e os 7 dias após a mesma (García-Ispuerto et al., 2007), sendo o risco de falha de ovulação 3,9 vezes mais elevado (López-Gatius, López-Béjar, Fenech & Hunter, 2005). Em virtude do reduzido desenvolvimento folicular durante a estação quente, verifica-se uma subsequente redução na secreção de inibina, situação que promove concentrações plasmáticas de FSH acima do normal e, deste modo, o processo de dominância folicular é alterado, conduzindo a um maior número de ovulações, a um aumento da taxa de gémeos (Ryan & Boland, 1991) e a um risco aumentado de aborto. Outro aspeto relevante da subfertilidade induzida pelo “stress” hipertérmico é o facto de o mesmo persistir no outono e corresponde a cerca de 1/3 da subfertilidade associada ao calor. A zona de conforto para as vacas leiteiras foi estimada como sendo entre os 5°C e os 25°C, no que se refere às temperaturas ambientais (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

O efeito adverso das temperaturas elevadas é exacerbado por altos níveis de humidade, especialmente em vacas leiteiras de alta produção (Johnson & Vanjonack, 1976) e é esta combinação de temperaturas elevadas com altos níveis de humidade que determina o nível de “stress” hipertérmico das fêmeas. O efeito combinado da temperatura e humidade pode ser quantificado usando o índice THI. Este índice foi desenvolvido por Thom em 1959 (Thom, 1959), de forma a estimar a perceção de calor em humanos, mas a sua eficácia para a quantificação do “stress” hipertérmico em vacas, foi confirmada por vários autores que verificaram que um THI diário igual ou superior a 72, entre os 35 dias antes a 6 dias após o dia da beneficiação resultava numa diminuição da taxa de concepção em cerca de 30%, em

comparação com vacas sujeitas a um THI inferior a 72 (De Rensis & Scaramuzzi, 2003). No entanto, também a velocidade do vento e a radiação podem afetar a produção de calor metabólico e, consequentemente, a produção leiteira. Os efeitos nefastos do “stress” hipertérmico sobre a fertilidade aumentaram nas últimas décadas e é provável que continuem a crescer se os níveis de produção de leite se mantiverem no atual ritmo da moderna alta produção (López-Gatius, 2003; Dobson, Smith, Royal, Knight & Sheldon, 2007; Pszczola, Aguilar & Misztal, 2009).

O efeito do “stress” hipertérmico na fertilidade de vacas leiteiras é multidimensional e envolve efeitos reprodutivos diretos, efeitos metabólicos e efeitos nutricionais. Um dos seus principais efeitos é a redução do consumo voluntário de ração (VFI), que é responsável pelo agravamento do balanço energético negativo pós-parto. Tem-se observado uma clara redução na ingestão de matéria seca em novilhas (Wilson, Kirby, Koenigsfeld, Keisler & Lucy, 1998; Ronchi et al., 2001; West, Mullinix & Bernard, 2003) e nas vacas lactantes (Wilson et al., 1998) sujeitas a temperaturas elevadas. O efeito negativo do VFI é maior nas vacas leiteiras de alta produção devido a uma maior necessidade de alimento e do seu metabolismo (Sakatani, Balboula, Yamanaka & Takahashi, 2012). Do ponto de vista metabólico, as vacas sujeitas a “stress” pelo calor revelam geralmente, um equilíbrio ácido-base sanguíneo alterado, em virtude de uma mudança do arrefecimento por condução, por convecção e por radiação, para um arrefecimento por evaporação (De Rensis, Lopez-Gatius, García-Ispuerto, Morini & Scaramuzzi, 2017). Esta dependência do arrefecimento por evaporação aumenta a frequência respiratória e altera o balanço de carbonato/bicarbonato, necessário para a manutenção do pH do sangue. Uma respiração ofegante também conduz a uma perda de bicarbonato na saliva, diminuindo o efeito tampão desta na fermentação ruminal, o que também resulta num equilíbrio ácido-base alterado, com efeitos negativos na fertilidade. Durante os períodos de calor, principalmente devido aos seus efeitos na ingestão de matéria seca, as concentrações sanguíneas das principais hormonas e fatores de crescimento, necessários para o normal desenvolvimento folicular, são reduzidas e inferiores ao ideal (Igono, Johnson, Steevens, Hainen & Shanklin, 1988). Um estudo demonstrou que durante o pós-parto, as concentrações plasmáticas de insulina, do factor de crescimento tipo insulínico 1 (IGF-1) e da glucose apresentaram valores inferiores no verão relativamente ao inverno (Rensis & Scaramuzzi, 2003). O “stress” hipertérmico associado a uma diminuição da ingestão de matéria seca pode reduzir a fertilidade, uma vez que a insulina é necessária para o normal desenvolvimento folicular e apresenta benefícios na qualidade do oócito (O’Callaghan & Boland, 1999). Tanto o IGF-1 como a glucose são estimulantes do crescimento folicular e da implantação embrionária, sendo que a última tem ainda um papel metabólico fundamental para o ovário (Rabiee, Lean, Gooden, Miller & Scaramuzzi, 1997) e

está envolvida na modulação da secreção pulsátil da LH (Bucholtz, Vidwans, Herbosa, Schillo & Foster, 1996). Durante o verão, o “stress” hipertérmico pode afetar a atividade do eixo HPO através de uma cascata de eventos relacionados principalmente com a diminuição da secreção de gonadotrofinas, provavelmente por diminuição da secreção de GnRH, o que resulta na inibição da atividade ovárica. Dados já publicados indicam ainda, um efeito direto do calor sobre o eixo HPO, que está relacionado com uma alteração da secreção do cortisol. De facto, em fêmeas bovinas sujeitas a “stress” agudo, o cortisol está aumentado (Muller, Botha & Smith, 1994; Rees, Fischer-Tenhagen & Heuwieser, 2016). Contudo, em vacas sob stress térmico crónico ele está diminuído (Christison & Johnson, 1972; Abilay et al., 1975) e isso compromete a fertilidade. Como a restrição alimentar não tem qualquer efeito sobre a secreção do cortisol, as concentrações reduzidas desta hormona devem-se provavelmente ao efeito do calor e não ao declínio no consumo de ração (Ronchi et al., 2001). Outra hormona que pode estar envolvida em situações de infertilidade, durante as estações do ano mais quentes, é a prolactina, que sendo uma hormona sensível a determinadas temperaturas, a sua concentração aumenta no verão (Weiss, Nancarrow, Armstrong & Donnelly, 1981; Igono et al., 1988; Lupoli, Johansson, Uvnäs-Moberg & Svennersten-Sjaunja, 2001; Ronchi et al., 2001;). O mecanismo pelo qual a prolactina pode ajudar o animal a adaptar-se ao “stress” hipertérmico ainda não está bem esclarecido, mas sabe-se que o seu efeito sobre a secreção de LH pode interromper o mecanismo de ovulação ou aumentar o intervalo entre o estro e a ovulação. A redução da secreção pulsátil de LH aumenta o risco de insuficiência ovulatória (López-Gatius et al., 2005) e de desenvolvimento de quistos ováricos (Lopez-Diaz & Bosu, 1992). Ronchi *et al.*, 2001 não encontraram alterações nas concentrações sanguíneas de FSH ou de estradiol em vacas sujeitas a “stress” pelo calor. Outros trabalhos acerca dos efeitos do calor nas concentrações plasmáticas de P₄ revelaram grandes discrepâncias havendo relatos de aumentos (Abilay et al., 1975; Trout, McDowell & Hansen, 1998; Wilson et al., 1998), diminuições (Ronchi et al., 2001; Alnimer, De Rosa, Grasso, Napolitano & Bordi, 2002; De Rensis, Valentini, Gorrieri, Bottarelli & Lopez-Gatius, 2008; Gendelman, Aroyo, Yavin & Roth, 2010) ou concentrações inalteradas (Guzeloglu et al., 2001; Roth, Meidan, Shaham-Albalancy, Braw-Tal & Wolfenson, 2001). Estas diferenças podem estar relacionadas com o tipo de “stress”, a fase do ciclo éstrico ou o estado metabólico do animal.

Durante o verão, observou-se um efeito positivo nas taxas de concepção, após o parto, em vacas submetidas a protocolos de sincronização quando se reduziu o período de administração de P₄, de 9 para 5 dias (De Rensis et al., 2017). Estas observações vieram a confirmar resultados de estudos anteriores que referiram que o declínio da fertilidade por “stress” hipertérmico é, em parte, atribuído ao comprometimento da função lútea e do teor de P₄ no útero, que são

prejudiciais para a sobrevivência do embrião (Wiebold, 1988). Por seu turno, reduzidas concentrações plasmáticas de P_4 em vacas sujeitas a temperaturas elevadas, podem aumentar a secreção endometrial de $PGF_{2\alpha}$, levando à luteólise (López-Gatius et al., 2005). Quando se adicionou um dispositivo de P_4 ao protocolo de sincronização, as taxas de concepção melhoraram (Pancarci et al., 2002). Nas épocas mais quentes do ano, a administração pós-IA de P_4 , às vacas com baixa condição corporal ou com problemas reprodutivos pós-parto, pode melhorar a fertilidade (Friedman, Roth, Voet, Lavon & Wolfenson, 2012; Friedman, Voet, Reznikov, Wolfenson & Roth, 2014). O fotoperíodo é outro fator que pode ser responsável pela diminuição das taxas de concepção, sendo porém, difícil distinguir os seus efeitos dos da temperatura, uma vez que, estão os dois frequentemente relacionados. Durante a estação quente, o fotoperíodo pode modificar o desempenho reprodutivo (Mwaanga & Janowski, 2000), provavelmente devido à secreção reduzida de melatonina durante o verão, o que diminui a frequência de pulsos de GnRH e deprime deste modo, a atividade do eixo HPO. Alguns estudos indicaram que o tratamento com melatonina antes do parto não modificava os parâmetros reprodutivos de vacas leiteiras. Contudo, um outro trabalho referiu que a administração de melatonina no verão, reduziu o número de dias abertos e a incidência de vacas repetidoras, a necessitarem de três ou mais IA até ficarem gestantes. Para além da sua função antioxidante, a melatonina tem um papel importante na mediação do fotoperíodo e pode também influenciar diretamente, as células da granulosa (Woo et al., 2001; Wang et al., 2012).

Estudos recentes indicam que, paradoxalmente, as vacas altas produtoras apresentam melhores desempenhos reprodutivos que as baixas produtoras, o que seria devido, provavelmente, a melhores maneios, nutricional e reprodutivo, aos quais estão, normalmente, sujeitas. Contudo, as novilhas leiteiras (nulíparas) vêm revelando uma melhor taxa de concepção que as vacas (64% vs. 39%), valores que não se alteraram durante o período de melhoramento genético da produção leiteira (Pryce, Royal, Garnsworthy & Mao, 2004). Deste modo, é aceitável sugerir-se que a exigência da elevada produção de leite afeta negativamente a probabilidade de a vaca ficar gestante.

2.7. A patologia pós-parto e a fertilidade

As vacas leiteiras de alta produção apresentam um aumento das necessidades energéticas de forma a compensar a crescente produção diária de leite, que atinge o pico entre a 4^a e a 8^a semana após o parto. Este requisito é parcialmente satisfeito pelo aumento do consumo de ração sendo o restante atingido pela mobilização de reservas corporais, o que resulta num balanço energético negativo (BEN) (Grummer, 2007). As principais consequências do BEN são o

aumento do risco de doenças metabólicas, uma redução da imunidade e uma diminuição da fertilidade (Roche, Friggens, Kay, Fisher, Stafford & Berry, 2009). A avaliação da condição corporal é bastante subjetiva uma vez que é visual e tátil. Contudo, foi correlacionada com o desempenho reprodutivo, concluindo-se que o estado nutricional afetava a função reprodutiva (Berry et al., 2003; Buckley, O'Sullivan, Mee, Evans & Dillon, 2003). Vacas com medíocre condição corporal ao parto, ou que sofreram uma queda acentuada de peso na fase inicial do pós-parto, são menos propensas a ovular, apresentam baixas taxas de sucesso à IA, maior probabilidade de aborto e aumento do intervalo entre o parto e a concepção (Roche et al., 2009). As vacas leiteiras imunodeprimidas apresentam maior risco de desenvolver distúrbios metabólicos como acidoses, esteatose hepática, retenção placentária ou deslocamento do abomaso (Roche, 2006; Mulligan & Doherty, 2008). No início da lactação, os distúrbios metabólicos causados por desajustes entre as exigências em macrominerais e a sua disponibilidade na dieta podem agravar a imunodepressão (Mulligan & Doherty, 2008). Animais que sofrem de distúrbios metabólicos no período peri-parto possuem uma maior probabilidade de desenvolver mastites e endometrites, que contribuem para uma reduzida eficiência reprodutiva (Roche, 2006). A contaminação uterina durante o parto ou nos dias que se seguem é uma situação inevitável e normal, pois 80-100% dos animais apresentam bactérias no lúmen uterino nas primeiras duas semanas pós-parto (Sheldon, Lewis, LeBlanc & Gilbert, 2006). A maioria das vacas consegue combater estas bactérias. No entanto, pelo menos 20% das fêmeas são incapazes de resolver a contaminação acabando por desenvolver metrites, nos 21 dias após o parto. A persistência de bactérias patogénicas por um período igual ou superior a três semanas resulta numa endometrite clínica, em cerca de 15 a 20% das fêmeas (Sheldon, Cronin, Goetze, Donofrio & Schuberth, 2009). O risco de infeção é significativamente maior em vacas com partos gemelares, nados-mortos, distócias ou retenções de membranas fetais (LeBlanc, 2008).

A incidência da mastite nos primeiros 30 dias após o parto é de 23% (Zwald, Weigel, Chang, Welper & Clay, 2004). Os efeitos da mesma na função reprodutiva, nomeadamente das causadas por bactérias gram-negativas, só foram destacados recentemente. Vacas com mastite clínica, nos primeiros 28 dias após o parto, demonstraram comportamento de estro mais tardio (91 dias) do que as restantes vacas que se encontravam saudáveis (84 dias) (Huszenicza et al., 2005).

A laminitite está associada ao aumento do número de serviços por concepção e consequentemente, numa menor taxa de concepção ao primeiro serviço (Hernandez, Shearer & Webb, 2001; Melendez, Bartolome, Archbald & Donovan, 2003). Há estudos que referem que vacas que claudicam durante os 30 dias pós-parto são 2,63 vezes mais propensas a desenvolver quistos

ovários e apresentam metade da probabilidade de ficar gestantes, quando comparadas a vacas sem história de claudicação nos primeiros 150 dias de lactação (Melendez et al., 2003). Estes últimos autores propuseram três hipóteses para o efeito negativo das laminites na fertilidade, tendo por base uma pesquisa bibliográfica sobre a matéria. Começaram por referir que a histamina e as endotoxinas, libertadas por fêmeas que sofrem de acidose ruminal, destroem a microvascularização do rúmen acabando por causar laminite. Estas substâncias podem também potencializar os seus efeitos a nível neuroendócrino e ovário comprometendo o pico de LH (Nocek, 1997). Como segunda hipótese, referem que o stress devido à dor resulta numa elevação nos níveis de cortisol e progesterona que são responsáveis por atividade ovárica anormal com formação de quistos ovários persistentes. A última hipótese está relacionada com o balanço energético das vacas que estão a claudicar e por isso, levantam-se menos para se alimentarem, situação que conduz a um efeito inibitório no crescimento e desenvolvimento folicular.

Estima-se que até 50% das vacas leiteiras apresentam ciclos éstricos anormais no pós-parto resultando num alongamento do intervalo entre o parto e a IA (Opsomer, Coryn, Deluyker & De Kruif, 1998) e numa diminuição da taxa de concepção (Garnsworthy, Fouladi-Nashta, Mann, Sinclair & Webb, 2009). Têm sido identificados diversos fatores de risco para o atraso da primeira ovulação. As vacas primíparas demoram mais dias até ovularem ($31,8 \pm 8,3$ dias) do que as múltiparas ($17,3 \pm 6,3$ dias) (Tanaka et al., 2008). As primíparas têm necessidades energéticas diferentes das múltiparas, pois necessitam de uma maior quantidade de energia para o seu crescimento, energia para a lactação e podem estar num BEN mais pronunciado (Lucy, 2001). Outros fatores que podem contribuir para o reinício tardio da ciclicidade podem ser: problemas no peri-parto, a época do parto, o manejo, mastite, claudicação e a perda de condição corporal (Crowe, 2008; Garnsworthy et al., 2009).

2.8. A mortalidade embrio-fetal

Ciclos éstricos normais associados a sinais evidentes de cio são essenciais para garantir que a inseminação ocorra na altura mais propícia. No entanto, a percentagem de animais em estro e que são beneficiados diminuiu de 80% para 50% e, a duração do período de estro reduziu-se de 15h para 5h (Dobson, Walker, Morris, Routly & Smith, 2008). Uma fraca expressão do cio aliada a uma incapacidade em detetar com rigor o comportamento de cio, dificulta ainda mais, a IA em tempo oportuno. Deficiências nas características espermáticas como a viabilidade e a morfologia e nas características funcionais e moleculares podem também impedir o sucesso da fertilização.

A mortalidade embrionária é uma das principais causas de falha reprodutiva. A mortalidade precoce dos embriões ocorre entre a fertilização e o dia 24 de gestação e, a mortalidade embrionária tardia ocorre entre os dias 25 e 45, enquanto a mortalidade fetal ocorre após este período e prolonga-se até ao parto (Nomenclature, 1972). Com base em taxas de fertilização de 90%, as taxas de mortalidade embrionária e fetal podem ser de 40% e 56% e, as taxas de parto de 55% e 40%, em vacas leiteiras de rendimento moderado e alto, respetivamente (Diskin & Morris, 2008). Alguns estudos indicam que as maiores perdas ocorrem na primeira semana após a conceção (Sartori et al., 2002), enquanto outros sugerem que ocorrem na segunda semana após a conceção (Diskin & Sreenan, 1980). Consideremos então três períodos de mortalidade embrionária: muito cedo, entre os dias 0 e 7; precoce, entre os dias 7 e 24; tardia, a partir do dia 24 e estendendo-se até ao dia 45. As causas de mortalidade embrionária precoce concentram-se na incapacidade dos embriões de se desenvolverem como consequência de uma baixa qualidade oocitária ou de um ambiente uterino inadequado. É de consenso geral que o desenvolvimento embrionário in vitro (ao dia 7) a partir de oócitos de vacas altas produtoras é inferior ao de vacas médio produtoras, independentemente da produção real de leite (Snijders, Dillon, O'Callaghan & Boland, 2000). Também o fato de serem ou não lactantes tem um efeito significativo na qualidade do embrião. O embrião muito precoce permanece no oviduto durante 4-5 dias após a ovulação, antes de chegar ao útero. O oviduto fornece nutrientes (íões, aminoácidos, glicose) e fatores de crescimento (IGF-I e IGF-II) ao zigoto em desenvolvimento (Robinson, Hammond, Wathes, Hunter & Mann, 2008) que podem ser alterados pela nutrição materna (Pushpakumara et al., 2002) ou pelo balanço energético (Fenwick et al., 2007) ou ainda, pela lactação. Estes estudos implicam a via de sinalização do IGF dentro do oviduto como perturbador do desenvolvimento embrionário precoce em vacas em lactação. Deve-se salientar que a interrupção do mecanismo do movimento muscular e ciliar do oviduto para o transporte de espermatozóides e oócitos, pode conduzir a uma chegada ao útero demasiado precoce ou tardia, resultando em morte embrionária precoce (Wiebold, 1988). O ambiente uterino de vacas em lactação, antes do dia 7, pode também não ser o mais adequado para suportar o desenvolvimento embrionário. A progesterona é a hormona da gestação e o seu papel no início da mesma, em bovinos, tem sido alvo de atenção por parte dos investigadores. Embora o interesse se baseie essencialmente nas concentrações da progesterona materna após o dia 7, têm vindo a surgir novas informações acerca das concentrações antes desse dia. Fêmeas que revelam um aumento nas concentrações de P₄ entre os dias 4 e 7 após a IA, ou seja, maiores concentrações no decorrer deste período, apresentam uma maior probabilidade de manter a gestação do que aquelas com um aumento mais lento (Diskin & Morris, 2008). Esta hipótese tem algum suporte, uma vez que, um aumento de cinco vezes nas concentrações sistémicas de

P₄, pós-concepção, foi associado a um aumento do tamanho do embrião nos dias 13 e 16 de gestação (Carter et al., 2008). Atualmente, pensa-se que esta hormona, tem pouco ou nenhum efeito direto sobre o embrião (Clemente et al., 2009). Contudo, a sua elevação precoce induz alterações nas secreções do endométrio, responsáveis pelo desenvolvimento embrionário após o dia 7, o que nos poderá indicar uma maior capacidade para o reconhecimento materno da gestação (Walsh, Williams & Evans, 2011).

2.9. Protocolos de sincronização de estro

A indução de uma nova onda folicular através de tratamentos hormonais exógenos requer o fim da onda folicular pré-existente e o aumento transitório da FSH, de modo a promover-se o aparecimento da nova onda e o crescimento normal de um folículo dominante após a seleção. A dependência primária das gonadotrofinas para a progressão da onda folicular resultou na utilização de esteróides de forma a suprimir a FSH e LH e a terminar, desta forma, a onda em curso. No entanto, deve ser entendido que a FSH e a LH são reguladas de forma diferente (Ginther et al., 1998). No caso da FSH, o folículo dominante atua como principal regulador de possíveis aumentos ou diminuições que ocorram durante a onda. Por outro lado, embora as concentrações de P₄ sejam importantes na regulação da frequência pulsátil da LH, existem outras alterações que ocorrem durante a fase lútea que são difíceis de esclarecer devido a alterações nas concentrações periféricas da P₄ ou do estradiol (E₂). Uma possível abordagem é a administração de GnRH de modo a induzir picos endógenos de LH e FSH que serão responsáveis pela luteinização ou ovulação de um folículo dominante pré-existente, ou então, pelo aparecimento directo de uma nova onda folicular (Twagiramungu, Guilbault & Dufour, 1995).

2.9.1. A utilização de GnRH

A administração de GnRH induz um pico de LH e um aumento de FSH, cuja magnitude é independente da concentração de P₄ ou do estágio da onda folicular (Hopper, 2014). No entanto, o seu efeito na onda folicular pré-existente está dependente da presença ou ausência de um folículo dominante. A administração de GnRH após a seleção do folículo dominante conduz à ovulação do mesmo, com o surgimento de uma nova onda 1,5-2 dias mais tarde (Twagiramungu et al., 1995). Contudo, este péptido não possui efeitos sobre a progressão de uma onda folicular quando administrada antes da seleção do folículo dominante. Em todas as vacas tratadas após a seleção do folículo dominante, registou-se um aumento transitório da FSH (mas não da LH), associado ao aparecimento de uma nova onda (Hopper, 2014). O recurso à PGF_{2α} de modo a

causar a regressão do CL induzido torna-se obrigatório quando pretendemos sincronizar as ondas foliculares. O estágio de desenvolvimento do folículo dominante (Martinez, Adams, Bergfelt, Kastelic & Mapletoft, 1999), assim como, a fase do ciclo éstrico (Vasconcelos, Silcox, Rosa, Pursley & Wiltbank, 1999) em que a fêmea se encontra, na altura de administração da GnRH, são fatores que afetam os resultados. A sua administração quando o folículo é pré ou pós-dominante poderá não conduzir à ovulação, não surgindo, por isso mesmo, a nova onda folicular (Martinez et al., 1999). Deve garantir-se a existência de um folículo dominante, crescente e funcional, no momento do tratamento, aconselhando-se para tal, que a administração deva ocorrer entre os dias 5 e 12 do ciclo éstrico (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2001).

2.9.2. A administração de estradiol (E₂)

O E₂ suprime a fase de crescimento do folículo dominante, sendo essa supressão mais profunda quando em combinação com a P₄ (Wiltbank, Sturges, Wideman, LeFever & Faulkner, 1971). O mecanismo responsável por esta supressão parece envolver a diminuição dos teores da FSH e da LH e, exerce também, um efeito negativo sobre o hipotálamo e a hipófise (Bo et al., 1994). A supressão dos pulsos de LH pela combinação do tratamento com E₂ e P₄ é importante para reduzir o E₂ folicular no folículo de maiores dimensões. O seu mecanismo de ação parece ser através da FSH e da LH, promovendo a atresia do folículo, seguida de uma libertação síncrona de FSH e surgimento de uma nova onda folicular.

A União Europeia proibiu a utilização de substâncias que possuam um efeito hormonal para a promoção do crescimento em animais de criação. Proibições estas que são aplicáveis aos Estados-Membros e às importações provenientes de países terceiros. O estradiol 17beta é uma dessas substâncias. A proposta foi ligeiramente alterada de modo a reduzir as circunstâncias ao abrigo das quais o estradiol 17beta pode ser administrado apenas com outros fins que não a promoção de crescimento, tais como, tratamento de maceração/mumificação fetal, tratamento de piómetras em bovinos, equinos, ovinos e caprinos. Tendo sido eliminada esta última utilização num relatório apresentado posteriormente a 14 de Outubro de 2006 (Directiva 96/22, de 14 de Outubro, Comissão das Comunidades Europeias. Bruxelas).

2.9.3. A utilização de prostaglandina F₂alfa (PGF_{2α})

O mecanismo de ação da PGF_{2α} é a luteólise, estando a aplicação de um programa com recurso único a esta molécula, restrita a vacas com um CL maduro funcional. A administração de uma dose luteolítica de PGF_{2α} ou de seus análogos sintéticos conduz à regressão funcional e morfológica do CL, ao longo do diestro, induzindo o estro em mais de metade (55-65%) de um grupo de vacas cíclicas. A administração de uma nova injeção, 11 a 14 dias depois, pode resultar

numa sincronização de estro desse grupo, porque a maioria das vacas que respondeu à primeira injeção estará nos dias 6-15 do ciclo (estando a maioria nos dias 7-9) e as restantes em pleno diestro (Colazo, Martínez, Kastelic, Mapletoft & Carruthers, 2002).

2.9.4. Indução da ovulação

Antes do pico pré-ovulatório da LH, em vacas cíclicas, a sua frequência pulsátil aumenta gradualmente para um pulso por hora, em resposta aos pulsos de GnRH exógenos. Neste tipo de fêmeas, uma única dose de GnRH é capaz de induzir um pico de LH e a ovulação quando administrada, aproximadamente, 10 a 18 dias após o parto (Yavas & Walton, 2000). De igual modo, uma única dose de 500-3000 UI de Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) tem a capacidade de induzir a ovulação, nesta espécie animal (Hopper, 2014). O E₂ exógeno tem igualmente sido utilizado para induzir a ovulação devido ao seu efeito de “feedback” positivo sobre os picos de FSH e LH (Hopper, 2014). É importante salientar que a GnRH induz normalmente, um CL com uma vida útil mais curta do que um CL espontaneamente formado. Por seu turno, a administração de GnRH antes da involução uterina estar completa pode resultar em piómetra. Deste modo, uma única injeção de GnRH durante o período inicial pós-parto, não é na realidade muito útil (Hopper, 2014).

2.9.5. Protocolos com recurso à progesterona (P₄)

Tratamento de 14 dias

Neste protocolo, as vacas são tratadas, durante 14 dias, com um dispositivo intravaginal de P₄ ou são suplementadas oralmente com um progestagénio, como seja o acetato de melangesterol. Como a ovulação é inibida por um período máximo de até 14 dias, o folículo que ovula com este protocolo pode encontrar-se envelhecido, diminuindo assim a fertilidade (Hopper, 2014). Para ultrapassar esta situação, a PGF_{2α} é administrada 19 dias após a remoção da P₄. Os animais devem ser sujeitos à detecção do cio, 2 a 4 dias após o tratamento com a PGF_{2α} e inseminados durante o cio, utilizando-se a regra “AM-PM”. Esta injeção de PGF_{2α} provoca a regressão do CL que se forma após a ovulação de um folículo persistente e, posteriormente, irá ocorrer um cio com boa fertilidade (Hopper, 2014).

Tratamento de 7 dias

Neste programa de sincronização, a P₄ é geralmente veiculada por um dispositivo intravaginal que é mantido por 7 dias. A P₄ do dispositivo imita funcionalmente a que é produzida pelo CL e inibe o cio e a ovulação. Nas fêmeas em que o CL já regrediu no período de 7 dias, quando

se remove o dispositivo de progesterona, vão mostrar sinais de cio. A detecção dos cios deverá ocorrer, 2 a 6 dias, após a remoção do dispositivo intravaginal, sendo as fêmeas inseminadas segundo a regra “AM-PM”, quando detetadas em cio (Hopper, 2014).

A utilização de GnRH num protocolo de 7 dias

A exposição à P₄ não sincroniza as ondas foliculares. No entanto, a GnRH exógena, quando administrada no início do tratamento com aquela hormona, sincronizará as ondas foliculares. A duração normal de uma onda folicular é 7 a 10 dias. Assim sendo, se existir um folículo maduro no início de um protocolo com recurso único à P₄, esse folículo persistirá. O crescimento de uma nova onda folicular através da administração de GnRH, no início daquele protocolo, reduzirá a formação de folículos persistentes. Além disso, o bloqueio progesterónico presente entre as injeções de GnRH e de PGF_{2α} eliminará a possibilidade das fêmeas tratadas de exibirem cio antes da administração desta última. Os animais serão inseminados em estro, após a remoção da P₄ (Hopper, 2014).

Sincronização da ovulação

A sincronização da ovulação pode envolver uma combinação de GnRH e PGF_{2α}, com ou sem suplementação de P₄. Estes protocolos facilitam a inseminação num horário predeterminado (fixo - IATF), não havendo necessidade de deteção de cio. Vários protocolos têm sido utilizados com taxas de gestação aceitáveis (Hopper, 2014)

Protocolo GnRH-PGF_{2α} – GnRH (Ovsynch)

Este protocolo envolve uma injeção de GnRH numa fase aleatória do ciclo éstrico, que é seguida de uma injeção de PGF_{2α}, 7 dias depois. Após a administração desta última, segue-se 48h depois, uma segunda injeção de GnRH. Este método (Ovsynch) pretende uma inseminação cronometrada 16 horas (intervalo de 8 a 24) após a segunda injeção de GnRH (Twagiramungu et al., 1995). A primeira administração de GnRH é responsável pela ovulação ou luteinização de todos os folículos dominantes ou em crescimento. Deste modo, inicia-se uma nova onda folicular, aproximadamente 3 dias depois. Portanto, todas as fêmeas do grupo terão folículos em crescimento mais ou menos na mesma fase de desenvolvimento. Além disso, a GnRH estimula o desenvolvimento do tecido lúteo a partir das células do anterior folículo dominante. A injeção de PGF_{2α} é responsável pela lise do CL presente nessa altura. A segunda administração de GnRH tem como objetivo aumentar a sincronia de ovulação de um grupo. O sucesso da primeira injeção de GnRH para sincronizar o crescimento folicular é muito favorável em vacas, mas menos em novilhas.

O protocolo CO-Synch é semelhante ao Ovsynch, com exceção do facto de a segunda injeção de GnRH ser administrada no momento da IA (Hopper, 2014).

Protocolo Pré-synch

Era evidente que a fase do ciclo éstrico no início do Protocolo Ovsynch influenciaria o sucesso da sincronia da onda folicular. O início do protocolo muito precocemente (por exemplo, 1 a 4 dias após a ovulação) ou muito tardiamente (por exemplo, 13 a 20 dias após a ovulação) reduz a sincronia. Além disso, se o tratamento com GnRH for administrado quando o folículo é pré ou pós-dominante, a ovulação pode não ocorrer, bem como, o aparecimento da nova onda folicular (Martinez et al., 1999). A alternativa é poder garantir um crescimento viável do folículo dominante após o tratamento com a GnRH. As vacas apresentam uma resposta mais consistente quando aquela administração ocorre entre os dias 5 e 12 do ciclo éstrico (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2001). Vários têm sido os protocolos utilizados para que as vacas estejam entre os dias 5-12 do ciclo éstrico, no início dos Protocolos Ovsynch ou CO-Synch, como é o caso da pré-sincronização de vacas, antes do Ovsynch, utilizando-se por exemplo, duas injeções de $\text{PGF}_{2\alpha}$ separadas de 14 dias, seguido de um intervalo até ao início do protocolo de 11 dias (Galvão, Sá Filho & Santos, 2007), 12 dias (Moreira et al., 2001), ou 14 dias (Navanukraw et al., 2004) (Presynch-Ovsynch). Outro protocolo, designado G6G, inicia-se com uma injeção de $\text{PGF}_{2\alpha}$, que se destina a induzir a luteólise, seguida de uma injeção de GnRH, 2 dias depois, com o intuito de induzir a ovulação. As duas injeções de G6G têm como objetivo iniciar um novo ciclo éstrico. O Ovsynch está programado para começar 6 dias após a injeção de GnRH para a vaca estar no dia 6 do novo ciclo éstrico e ter um folículo dominante funcional, capaz de ovular em resposta à primeira administração de GnRH. Convém, porém, notar que a utilização da $\text{PGF}_{2\alpha}$ de modo a pré-sincronizar os ciclos éstricos não é eficaz em vacas anéstricas (Moreira et al., 2001). Protocolos de pré-sincronização que induzam a formação de um CL antes do início do Ovsynch são suscetíveis de melhorar a fertilidade em vacas acíclicas.

2.10. Biossegurança em vacas leiteiras

De acordo com Sibley (2010), a biossegurança pode ser definida como o risco de determinada doença entrar num determinado grupo de animais. A biossegurança total é impossível em termos absolutos. Contudo, a maioria dos principais riscos de biossegurança podem ser controlados de forma a minimizar-se o surgimento de uma dada doença. Quando os riscos de

biossegurança não podem ser controlados eles poderão então ser mitigados concebendo-se outros pontos de controlo de doenças, como o risco de disseminação ou a resiliência.

O controlo de qualquer doença consiste em limitar a sua propagação e minimizar o seu impacto na saúde, bem-estar e produtividade dos efetivos. Existem alguns pontos de controlo que apresentam um efeito crítico sobre o estado de doença num efetivo, e que podem ser agrupados em quatro secções principais, sendo considerados os quatro pilares que sustentam o estado de doença num determinado grupo: biossegurança, vigilância, resistência/imunidade e controlo. A biossegurança isolada não garante a saúde dos animais, devendo ser apoiada por uma vigilância robusta, uma manutenção da resiliência e um controlo adequado da doença na exploração. Todo este processo envolve a avaliação e gestão do risco a nível local, sendo a sua execução efetuada pelos responsáveis pela saúde dos efetivos.

O risco de uma doença infecciosa entrar num rebanho pode ser avaliado, medido e gerido, usando-se o conhecimento local e alguns conceitos básicos de epidemiologia. Os recursos necessários para proteger contra a incursão da doença podem ser comparados com o impacto da mesma se a biossegurança falhar.

Os outros pilares que apoiam o estado da doença do grupo devem ser fortalecidos recorrendo-se a uma vigilância mais minuciosa, gerindo-se a resiliência dos animais através da aplicação de medidas como a vacinação e controlos de modo a limitar a propagação dessa enfermidade. A importância de um risco específico é determinada pela epidemiologia da doença em questão, que requer uma avaliação e análise dos riscos envolvidos (Sibley, 2010).

De entre os riscos comuns de biossegurança em explorações leiteiras, podemos começar por referir a introdução de animais vindos de fora. As explorações leiteiras fechadas são bastante raras, verificando-se movimento de animais, entre explorações, com alguma frequência. É pouco provável que este tipo de ações tenda a diminuir por força de variados fatores de pressão de mercado como a necessidade de aumentar o tamanho do efetivo, do número de vacas leiteiras adultas, o abate forçado devido a algumas patologias, entre outros. De forma a contrariar os possíveis efeitos nefastos destas movimentações, são necessários cuidados de maior relevo no que toca ao plano de biossegurança de cada exploração. É de extrema importância alertar os produtores para os possíveis perigos destas movimentações e preveni-los para situações em que animais, aparentemente saudáveis, não o são, ou mesmo para outras em que animais gestantes originam filhos persistentemente infetados. É essencial proceder-se a determinadas ações de forma a conseguir gerir os riscos de biossegurança como a seleção na origem, quarentena e exames sanitários prévios. Também o contato com animais de outras explorações da vizinhança constitui um risco a ter em conta. De forma a contrariar esta situação, os produtores devem unir-se de forma a criar zonas geográficas de biossegurança e controlo de doenças. Até que estes

procedimentos sejam alcançados, deve reforçar-se a biossegurança local com uso adequado de cercas e uma boa gestão do movimento dos animais. O risco de transmissão de agentes através de pessoas também deve ser um outro fator a ter em conta e a formação dos trabalhadores é fulcral para a diminuição desse risco. Pessoas que trabalham com outros animais representam um risco maior tais como, veterinários, técnicos de inseminação artificial, técnicos de podologia, comerciantes de gado, entre outros. O fornecimento de material como equipamento descartável (batas, fatos-macaco e botas) específico para aquela exploração é uma das medidas que visam a redução do risco. A utilização de alguns veículos de trabalho contaminados também poderá representar um risco, sendo essencial a sua regular limpeza e desinfecção. Os animais selvagens ou domésticos errantes e alguns insetos e aracnídeos, que servem de vetores para outros tantos agentes patogénicos, são um verdadeiro desafio a qualquer plano de biossegurança visto que são, muitas vezes, incontroláveis (Sibley, 2010).

Um trabalho realizado na Holanda mostrou que existem benefícios económicos significativos para uma exploração leiteira quando o plano de biossegurança é bem aplicado, traduzindo-se numa melhoria das taxas de fertilidade e diminuição nas taxas de abate (van Schaik, Dijkhuizen, Benedictus, Barkema & Koole, 1998). As estratégias de saúde e bem-estar animal devem reconhecer a necessidade de prevenir as doenças ao invés de curá-las e, a importância de uma gestão de biossegurança (Sibley, 2010).

2.11. Futuro do Médico Veterinário no manejo de bovinos leiteiros

As explorações leiteiras são, desde há muito, um desafio enorme para os médicos-veterinários na medida em que há necessidade de assistência em diversas áreas, como clínica, reprodução, cirurgia, obstetrícia, entre outras. É necessário aplicar uma abordagem diferente da que se utilizava antigamente. Os pontos fortes, as fraquezas, as oportunidades e as ameaças são os quatro pontos-chave que devem fazer parte dos objetivos da análise, de forma a encontrar as soluções para esta profissão. O médico-veterinário deve ser o elemento mais importante para o sucesso da exploração tendo um papel relevante na formação dos produtores e seus colaboradores, de modo a que, em conjunto, se consiga facilmente, encontrar as soluções e tomar decisões acertadas. A abordagem veterinária deve lidar com diferentes temas que têm vindo a ser tratados por outros técnicos como a nutrição, a gestão, a produção, entre outros (Cannas da Silva, Bexiga, Gelfert & Baumgartner, 2010). A gestão é uma das questões mais relevantes nas explorações leiteiras. Sem uma gestão adaptada, não podemos esperar resultados satisfatórios ao nível da produção, redução de doenças e melhoria da rentabilidade da exploração leiteira (Cannas da Silva et al., 2010). O médico-veterinário deve compreender a

exploração, os seus problemas e procurar soluções, não apenas médicas, mas também melhorar a gestão e a comunicação com o produtor (Webster, Lean & Curtis, 1997). É importante identificar os problemas e resolvê-los, tendo como objetivo evitá-los no futuro. Nas visitas à exploração, é essencial ter tempo para observar vários cenários e conversar com o produtor e trabalhadores, de modo a percebê-la e identificar os pontos que podem ser críticos. Uma boa capacidade de comunicação é fundamental para o médico-veterinário conseguir convencer o produtor dos melhores métodos para melhorar a qualidade e rendibilidade da sua exploração. O exame clínico é a base para um bom diagnóstico que permita identificar um animal doente, que em alguns casos pode afetar o estado de saúde do restante efetivo. Um bom domínio da fisiologia e da semiologia permite que os profissionais realizem diagnósticos corretos e identifiquem doenças ainda num estágio inicial. No caso de emergências típicas como mastites, pneumonias, diarreias e enterites, doenças metabólicas, distúrbios nervosos, partos distócicos, prolapsos uterinos e outros problemas, o exame clínico do animal doente é a primeira e principal tarefa (Cannas da Silva et al., 2010). Algumas destas doenças são suscetíveis de vir a afetar a exploração. A este nível, são possíveis duas diferentes abordagens. Na primeira, a doença de um ou mais animais poderá indicar-nos que a maioria dos animais sofrerá de doença subclínica, ou seja, esses animais apesar de não exibirem sinais clínicos, apresentam níveis de produção diminuídos. Na segunda abordagem, a monitorização contínua da manada é efetuada com o intuito de controlar o nível de produção, a incidência de doença e outros fatores que irão prejudicar a produção leiteira. A monitorização contínua permite a deteção precoce do risco de distúrbios através de alguns parâmetros como a avaliação da claudicação, da condição corporal, da higiene, da prevalência de mastites, entre outros (Cannas da Silva et al., 2010). Por vezes, o exame clínico pode não ser suficiente para se chegar ao diagnóstico definitivo, sendo necessário recorrer a outros meios de diagnóstico de forma a obtermos um resultado definitivo. As análises laboratoriais auxiliam no diagnóstico, e podem ser úteis na tomada de decisão de iniciar um tratamento ou enviar o animal para abate ou ainda, podem informar se o tratamento está a ser bem-sucedido (Cannas da Silva et al., 2010). Ao nível do efetivo, as análises laboratoriais são úteis na deteção de doenças subclínicas ou dos fatores de risco.

De forma a monitorizar a exploração e avaliar o seu nível de produção, pode recorrer-se aos dados do controlo mensal de leite e aos parâmetros de fertilidade (Kinsel & Etherington, 1999). O tratamento surgirá como consequência do exame clínico e do diagnóstico e, é importante que se desenvolvam e introduzam protocolos gerais para as doenças mais comuns na exploração, com a indicação dos antibióticos de primeira escolha, com os tratamentos adaptados ao animal individual e ao grupo, com objetivos claros, para alcançar o sucesso, e com uma análise económica de avaliação dos custos e dos benefícios, de forma a poderem ser discutidos com o

produtor, de forma que, no final, sejam tomadas decisões úteis ao proprietário. Após o diagnóstico e o tratamento, devem ser implementadas medidas profiláticas com o principal objetivo de diminuir o risco de doença ou de produção diminuída. Também a análise e a avaliação das condições de estabulação são componentes essenciais na gestão da exploração. É necessário avaliar e, se possível, pontuar o alojamento em: tipo, quantidade, higiene, bem-estar, construção, instalações, superfícies, tipos de cama, sala de ordenha, entre outros. A alimentação deve ser verificada regularmente, sendo necessário avaliar a qualidade, a quantidade, o armazenamento, o abastecimento de água, o método de alimentação. O médico-veterinário deve ser responsável pelo cálculo das quantidades de ração e pela observação das manjedouras. A avaliação das técnicas e procedimentos de ordenha é também uma das tarefas dos médicos-veterinários. Todo o equipamento e material de ordenha deve ser verificado antes, durante e depois da ordenha, dada a influência que pode ter na qualidade e biossegurança do leite. Os registos mensais da produção leiteira devem ser utilizados para monitorizar a quantidade e a qualidade do leite produzido, assim como, para deteção de eventuais pontos fracos. Após o cálculo das curvas de lactação em diferentes faixas etárias de vacas em produção, a sua interpretação no início e no pico de lactação, bem como, a análise da sua persistência, podem facultar informações sobre a existência de possíveis fatores de risco como é o caso de algumas doenças metabólicas (Cannas da Silva et al., 2010).

A reprodução é normalmente a função mais comum para os veterinários. Este é um trabalho generalizado e permite ao médico-veterinário um maior contato com o produtor. É necessário avaliar os índices reprodutivos, assim como, o desempenho reprodutivo. O técnico deve aproveitar para fazer um exame geral e abrangente, avaliando o aspecto das fezes, a condição corporal, a locomoção, etc. De acordo com Cannas da Silva et al. (2010), em cada visita, as fêmeas a examinar, devem ser: vacas 15-20 dias após o parto; todas as que foram anteriormente identificadas com problemas puerperais; vacas que não exibiram comportamento de cio nos 60 dias após o parto ou com ciclos anormais; vacas para diagnóstico de gestação 35 dias após IA ou monta natural; vacas para reconfirmação da gestação entre 80-120 dias após IA e com DG positivo; vacas para verificação de pré-secagem. De forma a analisar a incidência de uma qualquer doença, é fundamental que os produtores façam um registo contínuo desses mesmos dados). Esse registo deve ser executado de uma forma simples de modo a evitarem-se erros que prejudiquem todo o processo.

A gestão de programas de saúde da exploração apresenta melhores resultados quando executados em conjunto com o produtor. Se diagnosticarmos uma elevada incidência de doenças metabólicas por um lado, e uma alta produção leiteira, do outro, o que devemos fazer? A resposta não é óbvia e deveremos encontrar o equilíbrio entre o nível de produção e a incidência

da doença. Os veterinários e os produtores devem olhar para as explorações como empresas e para os animais como unidades de produção. Sendo o leite a principal fonte de lucro das explorações leiteiras, o principal objetivo é produzi-lo com uma qualidade elevada, em grande quantidade e com respeito pela segurança dos consumidores. Para o produzir, o produtor tem custos, dos quais se destacam os custos com a alimentação. A pressão mais intensa do consumidor vai, direta e indiretamente, para o veterinário. O uso de medicamentos veterinários está sujeito a regulamentos cada vez mais exigentes e os consumidores não entendem, muitas vezes, o motivo porque são tratados os animais doentes. O médico veterinário não deve evitar a discussão destes assuntos e é seu dever explicar que o tratamento dos animais deve resultar numa redução da dor e numa melhoria do bem-estar.

A rastreabilidade dos produtos de origem animal é outro tema bastante atual (Cannas da Silva et al., 2010). Os consumidores, os media e a União Europeia estão progressivamente mais preocupados com a biossegurança, o que conduz a uma necessidade de implementar procedimentos de segurança para todos os fármacos utilizados na exploração (Webster, 2001). Se futuramente, os médicos-veterinários pretenderem alcançar resultados muito positivos, é essencial que comecem a apostar mais na profilaxia e menos na terapia, a fazer um controlo completo da reprodução e a definir estratégias reprodutivas, a monitorizar a qualidade do leite, a apostar na gestão da exploração e a obter mais conhecimentos sobre economia (Cannas da Silva et al., 2010).

2.12. Métodos de análise económica

A economia está presente diariamente nas nossas vidas onde desempenha um papel importantíssimo, não devendo ser descurada, igualmente, na produção agro-pecuária. Alfred Marshall começa o seu livro, *Principles of Economics* (publicado em 1920), por definir economia como “*o estudo da humanidade nos assuntos correntes da vida*”. Mais tarde, Paul Samuelson no livro de sua autoria (de 2010), *Economics*, afirma que “*Economia é o estudo de como as pessoas e a sociedade escolhem o emprego de recursos escassos, que podem ter usos alternativos, de forma a produzir vários bens e a distribuí-los para consumo, agora e no futuro, entre as várias pessoas e grupos na sociedade*”.

É fundamental ter conhecimento de alguns conceitos económicos de forma a produzir uma avaliação correta da viabilidade económica de uma exploração e das alterações que determinadas tomadas de decisão possam vir a ter na mesma.

Uma análise económica apresenta como principal objetivo a orientação no planeamento e decisão face a uma utilização de recursos escassos. A avaliação económica é composta por

diferentes metodologias. Os resultados obtidos apresentam um papel fundamental no processo de planeamento e decisão ao nível da gestão de uma empresa pecuária (Martin, et al., 1987). O cálculo de perdas financeiras auxilia na determinação do impacte que uma doença pode implicar e apresenta também um papel relevante na avaliação das perdas a evitar. Ultimamente, o destaque tem sido colocado na estimação dos benefícios económicos que resultam dos procedimentos de controlo (Martin, et al., 1987).

Apesar dos métodos de análise económica auxiliarem no processo de tomada de decisão, podem existir outro tipo de soluções mais adequadas aos interesses de determinado indivíduo.

A escolha do método apropriado está dependente da disponibilidade de informação, do tipo de problema e nível económico em análise, da complexidade do sistema de produção, dos recursos disponíveis e da utilidade do modelo a desenvolver. (Bennet, 1992 e Dijkhuizen, 1992, citados por Henriques *et al.*, 2004). A tabela seguinte elucida de forma sucinta alguns dos métodos de análise económica (Otte, M.J & Chilonda, P., 2001).

Tabela 2 Métodos de análise económica (Adaptado de Otte, MJ & Chilonda, P., 2001)

Method	Level of analysis	Basic concept	Choice indicators	Examples
Partial budget analysis	Farm/herd level	Partial budget set up over period of one year	Marginal benefit	Rugoor <i>et al</i> (1994) Mukhebi <i>et al</i> (1989)
Enterprise budget	Farm/herd level	Gross margin analysis to compare profitability of different enterprises	Gross margin	Okello-Onen <i>et al</i> (1998)
Decision tree analysis	Farm level/higher level of aggregation	Purpose is to compute the value of different courses of action by incorporating risk (probabilities) and attitude towards risk into the analysis	Optimal choice based on criteria e.g. expected monetary value, minimax, maximax, etc	Ngategize <i>et al</i> (1986) Parsons <i>et al</i> (1986) Rodrigues <i>et al</i> (1990) Carpenter <i>et al</i> (1987)
-Linear programming and variants	Farm level	The goal is to find the best solution for competing activities when constraints exists	"optimal" solution	Christiansen and Carpenter (1983) Habtemarian <i>et al</i> (1983) Jalvingh (1993)
-Dynamic programming	Farm level	Searches for optimal solution	"optimal" solution	Van Arendock (1985)
Simulation	Farm level/higher level of aggregation	The goal is to simulate the dynamic and risk aspects of livestock disease within production systems	Variable	James (1977) Van der Kamp <i>et al</i> (1991) Houben <i>et al</i> (1994) Dijkhuizen <i>et al</i> (1987)
Cost-benefit analysis	Industry / national level	Comparison of benefits and costs covering more than one year	Net present value (NPV), Internal rate of return (IRR), Benefit Cost ratio (BCR)	Power and Harris (1973) Berensten <i>et al</i> (1993)
Cost-effectiveness analysis	All levels	Goal is to produce a desired output at least cost	Cost-effectiveness (e.g. number of animals vaccinated per \$ spent)	Tambi <i>et al</i> (1999)

Um orçamento parcial representa uma quantificação das consequências económicas de uma alteração específica no funcionamento de determinada exploração. Deve ser a metodologia a aplicar quando o que se pretende é uma simples comparação económica e o resultado não envolve um padrão de tempo específico, nem um elevado grau de incerteza (Dijkhuizen &

Morris, 1997). Um orçamento parcial é suficiente para avaliar as consequências de modificações parciais no sentido da melhoria dos resultados anuais futuros, conseguidos sem alteração significativa na organização existente (Aviilez et al., 1987). De acordo com Noordhuizen (1997), esta técnica parece ser adequada para fornecer uma opinião rápida relativamente ao potencial de uma intervenção. Para a utilização destes orçamentos é necessário que a alteração permita que algumas das receitas e alguns dos custos não se alterem. De modo a facilitar a compreensão desta análise económica, segue-se uma breve explicação de alguns conceitos.

Receita Total

A receita total (RT), é por definição, igual ao preço vezes a quantidade (Samuelson & Nordhaus, 1999). Corresponde aos montantes monetários que uma empresa obtém com a venda dos seus produtos.

$$RT = P \times Q$$

Custo Total

O custo total (CT) corresponde à menor despesa monetária total necessária para produzir cada nível de produção (q). O CT aumenta com o aumento de q. O custo fixo (CF) representa a despesa monetária que é suportada, mesmo que não haja qualquer produção. Por custo variável (CV) entende-se a despesa que varia com o nível de produção e inclui todos os custos que não são fixos. Por definição, verifica-se (Sloman, Sutcliffe & Sc, 1998):

$$CT = CF + CV$$

Lucro

O lucro (L) consiste na diferença entre as receitas totais e os custos totais de uma empresa durante um determinado período de tempo (Ross, Westerfield & Jaffe, 2008)

$$L = RT - CT$$

Um orçamento parcial de substituição apresenta 4 rubricas fundamentais: a- custos adicionais; b- receitas a menos; c- receitas adicionais e d- custos a menos.

Custos adicionais

Entendem-se por custos adicionais os custos que decorrem da introdução de uma intervenção ou projeto.

Receitas a menos

As receitas a menos representam o rendimento que é sacrificado com as alterações propostas e que está relacionado com o custo de oportunidade da alteração.

Receitas a mais

Entende-se como o rendimento extra que é gerado por uma intervenção de saúde animal que altera o estado de saúde dos animais.

Custos a menos

Os custos a menos são os custos que deixam de existir com a alteração.

Normalmente o OPS apresenta-se sob a forma da Tabela 3:

Tabela 3 Tabela explicativa de um orçamento parcial de substituição.

ORÇAMENTO PARCIAL	
Alteração proposta: _____	
a. Custos adicionais	c. Receitas adicionais
b. Receitas a menos	d. Custos a menos
_____	_____
A. Total custos adicionais e receitas a menos ($A=a+b$)	B. Total receitas adicionais e custos a menos ($B=c+d$)
_____	_____
<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="border-left: 1px solid black; height: 20px; width: 100px; margin-right: 10px;"></div> <div style="border-top: 1px solid black; width: 100px; margin-left: 10px;"></div> </div>	
Benefício líquido da substituição (B-A) _____	

A alteração proposta deverá ser adotada se o benefício líquido da substituição for positivo, ou seja, $B-A > 0$. Em que B corresponde à soma entre as receitas adicionais e os custos a menos, e A à soma entre os custos adicionais e as receitas a menos, seguindo a seguinte expressão:

$$\mathbf{B} = \mathbf{c} + \mathbf{d} > \mathbf{A} = \mathbf{a} + \mathbf{b}$$

3. TRABALHO EXPERIMENTAL

3.1. Objetivo

O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar se a introdução de um protocolo de ressincronização de ovulação seria, ou não, vantajosa numa exploração de bovinos leiteiros, em comparação com o modelo anteriormente utilizado, que se baseou apenas na deteção do cio. Pretendeu-se, deste modo, verificar se esta alteração traria benefícios a nível dos parâmetros reprodutivos e económicos de forma a tornar a exploração em estudo o mais rentável possível.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. A exploração

O estudo decorreu na exploração Barão e Barão, Lda, sediada em Benavente, durante os períodos de 30/05/2015 a 23/07/2016 (1º Período) e 24/07/2016 a 30/07/2017 (2º Período). Esta é uma exploração leiteira, de regime intensivo, apresentando um total de 1025 vacas Frísias Holstein e 2000 cabras das raças Saanen e Alpina. A empresa possui também 500 vacas de carne, em regime extensivo, numa exploração sediada na Azervadinha (Coruche). A empresa detém 30 colaboradores, 1 Médico-Veterinário, 1 Engenheiro Zootécnico e 1 Engenheira Agro-Pecuária. De entre os funcionários, 7 são os que estão aptos a praticar a técnica de IA.

Nesta exploração, a deteção do cio é efetuada por observação visual associada a indicações fornecidas por podómetros, nas vacas em produção. A observação visual é efetuada pelo menos três vezes ao dia, durante um período mínimo de 30 minutos. Contudo, nem sempre é possível os trabalhadores dedicarem, plenamente, o seu tempo, a esta tarefa.

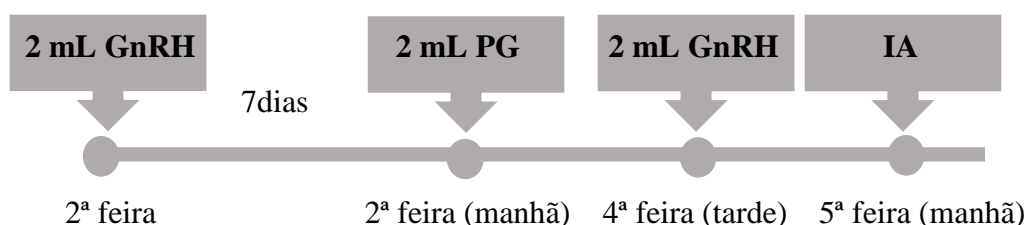
3.2.2. Os animais

As vacas incluídas neste estudo são todas de raça Frísia Holstein, com uma ou mais lactações e aparentemente saudáveis. Foram excluídas todas as fêmeas que apresentavam problemas reprodutivos como quistos ováricos, metrites, entre outros. Também foram excluídos todos os animais que foram refugados. A amostra é constituída por 169 animais ($n=169$), dos quais 83 vacas pertencem ao grupo que foi inseminado apenas com base na deteção do cio (1º Período) e, os restantes 86 animais foram sujeitos ao protocolo em análise (2º Período).

3.2.3. O protocolo

O protocolo utilizado neste estudo consistiu na administração de 2mL de GnRH (Acegon®, laboratórios SYCA, S.A.U) na segunda-feira anterior ao diagnóstico de gestação, posteriormente na administração de 2mL de um análogo da $\text{PGF}_{2\alpha}$, o cloprostenol (Bioestrovét®, Vetoquinol Especialidades Veterinárias, Espanha), no dia em que se efetuou o diagnóstico de gestação negativo, seguido da administração de 2mL de GnRH (Acegon®, laboratórios SYCA, S.A.U) aproximadamente 52h após a administração da $\text{PGF}_{2\alpha}$, sendo efetuada a IA cerca de 20h após a última administração. O diagnóstico de gestação é efetuado entre os dias 30 a 37, após IA, e o método utilizado é a ecografia por palpação transretal. Apresenta-se, de seguida, um esquema (Fig. 2) que simplifica a compreensão do protocolo.

Figura 2. Esquema do protocolo de ressincronização utilizado no estudo.



3.2.4. Valores a considerar no OPS

Sempre que uma alteração que se pretende implementar numa dada exploração, não envolva uma mudança significativa no aparelho de produção da empresa ou exploração, isto é, não envolva modificações no seu capital fundiário nem no seu capital de exploração fixo, e se esta alteração tem implicações nos resultados que se podem quantificar no período de um ano, então a metodologia dos Orçamentos Parciais de Substituição será o método de análise económica a utilizar para auxiliar na tomada de decisão. O capital fundiário de uma exploração corresponde aos seus bens imóveis. Na definição de Avillez et al. (1988) inclui “a terra e tudo o que nela haja sido incorporado com características de permanência, dela não se podendo separar sem que a sua capacidade produtiva se altere significativamente”. O capital de exploração fixo faz parte do conjunto de bens móveis, e pode ser definido como o “conjunto dos bens de produção com corpo distinto e separado do solo que, enquanto ao serviço da empresa, mantém a sua forma, contribuindo para sucessivas operações produtivas e que em geral se depreciam em vários anos até perderem todo ou parte do seu valor inicial” (Barros e Estácio, 1972). A metodologia do OPS permite-nos considerar apenas os custos variáveis, para além das receitas que se esperam decorrer da alteração proposta dando ideia, de uma forma simples, da

viabilidade económica da alteração que se pretende implementar. De forma a aplicar esta metodologia de análise é fundamental conhecer muito bem a forma como a exploração funciona, isto é, conhecer de forma clara a situação de base pois só assim será possível identificar de uma forma correta, os elementos que a aplicação deste método exige: identificação e quantificação dos custos a mais e a menos, e das receitas a mais e a menos, decorrentes da alteração que se pretende implementar. Este será o primeiro passo para aplicação deste método. A partir daqui será possível calcular a viabilidade económica da alteração proposta e que é dada pela diferença entre o somatório das receitas adicionais e dos custos a menos, e o somatório das receitas a menos e os custos a mais. Se esta diferença for positiva, então podemos considerar que a alteração proposta tem viabilidade económica.

Deste modo, foram utilizados os seguintes elementos:

- custos adicionais: fármacos
- custos a menos: diminuição do número de dias abertos
- receitas adicionais: aumento do número de kg de leite
aumento do número de vacas refugadas
- receitas a menos: número de vitelos para venda

O presente estudo foi realizado por um período de um ano. Foram avaliados os custos variáveis considerando como tais, os custos com a utilização de fármacos. Os custos com os fármacos rondaram os 3,73€ por animal. Os custos com os serviços veterinários não foram incluídos, pois não existe um custo adicional real, não havendo necessidade de pagar por esse serviço, uma vez que foi desempenhado pelos funcionários da exploração que têm esse tempo disponível, durante o seu dia de trabalho. No orçamento parcial de substituição considerou-se, também, a diminuição no número de dias abertos, ou seja, o número de dias que decorreram desde o diagnóstico de gestação negativo até à inseminação fecundante. De acordo com o dono da exploração em estudo, cada dia aberto, apresenta o valor de 4,50€, tendo sido este o valor considerado para os cálculos. Este valor diz respeito aos custos com a alimentação de cada vaca e às perdas com a quebra da produção de leiteira, no período em que já deveria estar gestante. Nesta exploração, o valor gasto com a alimentação não variou de acordo com a fase em que se encontrava a vaca, não tendo, por isso, entrado nos cálculos. Como receitas adicionais teve-se o aumento do número de kg de leite que se verificou com a diminuição do número de dias abertos, assim como, o aumento do número de vacas refugadas. Apesar da produção de leite ser variável de animal para animal, foi considerando o valor médio que foi fornecido pelo dono da

exploração. No ano em que não foi utilizado o protocolo de ressincronização do cio, a produção média de leite, por vaca, em 305 dias, foi de aproximadamente 14562kg de leite. No ano em que foi introduzido o protocolo de ressincronização do cio, a produção média de leite, por vaca, em 305 dias, foi de aproximadamente 14958kg de leite. Verificou-se um acréscimo da produção leiteira na ordem dos 396kg de leite, por vaca, sendo que cada kg de leite foi vendido a um preço médio de 0,3354€. Constatou-se que o valor da taxa de refugo aumentou de 2,9% para 3,1% com a introdução da alteração na exploração em estudo. O valor de cada animal que vai para refugo é de 650€, tendo este valor sido fornecido pelo dono da exploração. O aumento da taxa de refugo de 2,9% para 3,1% levou a um aumento das receitas em 1,3€ por vaca. O número de vitelos machos para venda diminuiu devido à diminuição da taxa de fertilidade, sendo deste modo, uma receita a menos. No ano sem o protocolo, o número de vitelos para venda, e por vaca, foi de 0,28 enquanto que, no ano com o protocolo, esse valor diminuiu para 0,23. De acordo com o dono da exploração, o preço de cada vitelo é de aproximadamente 100€ o que representa uma diminuição das receitas de 5€. Todos estes cálculos podem ser consultados com maior detalhe nos anexos.

3.2.5. Análise estatística

Os dados deste estudo foram compilados em tabelas no programa Excel do Microsoft Office (versão 2016) e a análise estatística foi efetuada através do programa R (R Development Core Team, 2011). Para tal, realizaram-se vários testes e considerou-se que um evento é estatisticamente significativo quando o valor de p é menor ou igual a 0,05. De modo a proceder-se à análise das variáveis qualitativas, utilizou-se o teste de *Fisher*. Para a análise das variáveis quantitativas verificou-se inicialmente a sua distribuição através do teste *Shapiro-Wilk*, em que a distribuição normal apresenta um valor de p superior a 0,05. Uma vez que as variáveis não apresentavam uma distribuição normal, realizou-se um teste não paramétrico, o teste de *Wilcoxon*.

3.3. Resultados

3.3.1. Número de inseminações desde o diagnóstico de gestação (DG) negativo até à inseminação fecundante considerando-se, ou não, o Resynch

Tabela 4. Número de inseminações desde o diagnóstico de gestação negativo até à IA fecundante considerando-se, ou não, a utilização do Resynch.

Resynch/IADX	1 (%)	2 (%)	3 (%)	4 (%)	5 (%)	6 (%)	7 (%)
Não	35 (42,2)	18 (21,7)	15 (18,1)	3 (3,6)	4 (4,8)	1 (1,2)	3 (3,6)
Sim	40 (46,5)	26 (30,2)	9 (10,5)	7 (8,1)	3 (3,5)	1 (1,2)	0 (0)

Na Tabela 4, contabiliza-se o número de inseminações que decorreram entre o DG negativo e a IA fecundante. O valor de p foi superior a 0,05, facto que nos indica que a utilização ou não, do *Resynch* não apresentou significância. Verificou-se, em ambos os intervalos de tempo em análise, que a maioria das vacas necessitou apenas de uma IA para ficar gestante, após um DG negativo.

3.3.2. Demonstração do cio no momento da IA

Tabela 5. Registo das vacas que demonstraram, ou não, de sinais do cio no momento da IA.

Resynch/Cio	Não (%)	Sim (%)
Não	0 (0)	83 (100)
Sim	19 (22,1)	67 (77,9)

A Tabela 5 ilustra a demonstração de sinais do cio no momento da inseminação fecundante. O valor de p foi inferior a 0,05, o que nos indica que existe relação entre a utilização do protocolo de sincronização e a demonstração, ou não, dos sinais de cio. Esta tabela revela que apesar de cerca de 22,1% das vacas não terem exibido sinais do cio, após a utilização do protocolo de ressincronização, ficaram igualmente gestantes.

3.3.3. Intervalo entre o DG negativo e IA fecundante

O valor de p foi inferior a 0,05 o que nos indica que apresenta significância verificando-se que existe uma relação entre a utilização ou não, do *Resynch* e o intervalo entre o DG negativo e a inseminação fecundante. As medianas encontradas para os anos sem utilização do protocolo, e com utilização do mesmo, foram 45 e 17,5 dias, respetivamente. Assim sendo, a diferença das medianas correspondeu a 27,5 dias abertos.

3.3.4. Taxas de refugo e fertilidade

Taxa de refugo do ano sem protocolo de ressincronização do cio = 2,9%

Taxa de refugo do ano com protocolo de sincronização do cio = 3,1%

As taxas de refugo da exploração apresentam valores bastante reduzidos, situação que se deve ao investimento que tem sido feito na genética responsável por prolongar a vida produtiva de cada animal e ao manejo melhorado.

Taxa de fertilidade do ano sem protocolo de ressincronização do cio= 30,76%

Taxa de fertilidade do ano com protocolo de ressincronização do cio= 26%

Verificou-se uma diminuição na taxa de fertilidade no ano com a utilização do protocolo, o que poderá ser justificado com o facto de ter sido um ano com temperaturas elevadas e as vacas se apresentarem sob stress hipertérmico.

3.3.5. Orçamento parcial de substituição

Tabela 6 Orçamento parcial de substituição para a exploração em estudo.

a) Custos adicionais		c) Receitas adicionais	
Fármacos	3,73€	Leite	132,82€
		Vacas refugadas	1,30€
b) Receitas a menos		d) Custos a menos	
Vitelos	5€	Dias abertos	123,75€
A) A= a+b		B) B= c+d	
A= 8,73€		B= 132,82€ + 1,30€ + 123,75€	
		B= 257,87€	

Benefício líquido de substituição (B-A) = 257,87€- 8,73€= 249,14€/ vaca

4. Discussão/Conclusão

As explorações leiteiras sentem, cada vez mais, a necessidade de recorrer a estratégias que lhes permitam detetar comportamentos de cio de forma mais eficiente ou que possibilitem a ressincronização dos retornos ao cio, de modo a aumentar a taxa de submissão à IA, a diminuir o intervalo entre as beneficiações e, com tudo isso, diminuir o intervalo entre partos, superando as dificuldades de uma eficiente deteção de cios.

Para o sucesso da aplicação de vários protocolos de ressincronização, as vacas deverão encontrar-se nos dias 5-7 do ciclo éstrico, no momento em que é efetuado um diagnóstico de gestação negativo, ou seja, cerca de 28 dias após a IA. A maioria dessas fêmeas deverá apresentar um CL sensível à $\text{PGF}_{2\alpha}$, assim como, um folículo dominante de primeira onda, capaz de ovular em resposta à GnRH. Outro aspecto importante para a otimização da fertilidade com recurso a esta estratégia foi o de determinar o intervalo ideal após IA para iniciar o Resynch, com base no conhecimento de particularismos do ciclo éstrico da fêmea bovina (Fricke, Caraviello, Weigel & Welle, 2003; Sterry, Welle & Fricke, 2006). Assumindo-se uma duração média do ciclo éstrico de 21 a 23 dias, o início do Resynch, 32 a 33 dias após IA, garantirá que a administração de GnRH venha a ocorrer entre os dias 5 e 12 do ciclo éstrico, etapa esta em que está presente um CL com desenvolvimento adequado (Vasconcelos et al., 1999; Moreira, De La Sota, Diaz & Thatcher, 2000).

Alguns estudos têm vindo a registar uma fertilidade pós-Resynch bastante reduzida, para vacas sem CL, por altura das primeiras administrações de GnRH ou de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Fricke et al., 2003), tendo sido necessário procurar tratamentos alternativos de acordo com o estágio do ciclo éstrico ou a presença de quistos ováricos (Bartolome et al., 2005).

O presente estudo teve como objetivo avaliar se a aplicação de um protocolo de ressincronização da ovulação traria benefícios em termos de melhoria dos parâmetros reprodutivos e consequentemente, em termos económicos, para a exploração em estudo. A maior dificuldade sentida pela autora consistiu na recolha e seleção de dados de todas as fêmeas inseminadas durante os períodos em análise, pois foi necessário recorrer a dossiers onde estavam arquivados os números das vacas e, posteriormente, analisar o histórico de cada uma no programa informático, de forma a conseguir construir as folhas Excel, unicamente com as vacas pretendidas. Esta dificuldade tem vindo a ser contrariada na exploração, que tem dedicado mais tempo a inserir todos os dados no programa informático de forma a facilitar a consulta dos mesmos. O estudo apresenta algumas limitações, os valores calculados no OPS apenas nos fornecem uma ideia se a alteração compensa ou não à exploração, representando um valor aproximado por animal e não um valor totalmente real. No estudo também não temos a

indicação de quantos diagnósticos de gestação negativos fez cada animal, tendo sido contabilizado apenas o último.

Os resultados obtidos corresponderam, de um modo geral, às expectativas. Quando comparados os números de IA, do diagnóstico de gestação negativo até à IA fecundante, os valores não revelaram diferença estatisticamente significativa. Verificou-se que a maioria dos animais apenas necessitou de uma IA após o diagnóstico de gestação negativo, tendo-se obtido os valores de 42,2% (n=35) e 46,5% (n=40), nos anos sem e com o protocolo, respetivamente. No grupo sujeito ao protocolo de ressincronização da ovulação, podemos observar que a partir da primeira IA, após um diagnóstico de gestação negativo, o número de animais foi diminuindo à medida que o número de IA necessárias à fecundação foi aumentando. Contudo, nesta avaliação, apenas foi considerado o número de inseminações, não tendo sido contabilizado o número de dias até à IA. Consultando os anexos poder-se-á verificar que há animais com 0 inseminações após diagnóstico negativo, ou seja, que não foram sujeitas ao protocolo de ressincronização, mas que levaram até 156 dias para serem detetados em cio e posteriormente inseminados. Enquanto que outros, sujeitos ao protocolo de ressincronização, foram inseminados uma vez, após um diagnóstico de gestação negativo e ficaram gestantes, 84 dias após o parto. Estes factos, podem indicar alguma ineficácia na deteção de cios, tendo o protocolo de ressincronização, que permite uma IA a tempo fixo, revelado ser uma mais valia neste aspecto, uma vez que exclui a necessidade da observação dos comportamentos do cio.

Como resultado da avaliação da demonstração de comportamento de cio no momento da IA, verificou-se que o facto de as vacas não terem um registo de cio no momento da inseminação, não significou que não pudessem ficar gestantes, após a ressincronização. Dezanove vacas (22,1%) de um total de 86 sujeitas ao protocolo, ficaram gestantes sem demonstração de sinais de cio.

Relativamente à análise do número de dias entre o DG negativo e a IA fecundante, com o recurso ou não do protocolo de ressincronização, obtiveram-se medianas de 17,5 dias e 45 dias, respetivamente.

Após a aplicação da metodologia de cálculo do orçamento parcial de substituição, verificou-se que o benefício líquido de substituição é superior a zero, o que é indicador de que foi vantajosa para a exploração leiteira a introdução desta estratégia no seu manejo reprodutivo. Com a utilização da metodologia do orçamento parcial de substituição, obteve-se um benefício líquido de substituição de 249,14€/vaca.

Os objetivos do trabalho foram atingidos. Pretendia-se perceber se a utilização deste protocolo seria, ou não, vantajosa para a exploração em estudo, o que foi confirmado.

Assim sendo, pode concluir-se que a utilização do protocolo de ressincronização da ovulação permitiu que a exploração reduzisse os seus custos e aumentasse as suas receitas de uma forma positiva, podendo com este capital, investir em outros sectores da vacaria de forma a torná-la ainda mais rentável.

É importante salientar que este valor é algo indicativo, sendo essencial uma monitorização da exploração e do comportamento da amostra estudada, particularmente no que diz respeito aos parâmetros sujeitos a alterações.

5. BIBLIOGRAFIA

- Abilay, T. A., Johnson, H. D., Madan, M., Bergman, R. K., Johnson, H. D., Chowers, I., ... Johnson, H. D. (1975). Influence of environmental heat on peripheral plasma progesterone and cortisol during the bovine estrous cycle. *Journal of Dairy Science*, 58, 1836-1840. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(75\)84795-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(75)84795-3)
- Aerts, J. M. J., & Bols, P. E. J. (2010). Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01298.x>
- Alnimer, M., De Rosa, G., Grasso, F., Napolitano, F., & Bordi, A. (2002). Effect of climate on the response to three oestrous synchronisation techniques in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 71, 143-272. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00021-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00021-0)
- Amundson, J. L., Mader, T. L., Rasby, R. J., & Hu, Q. S. (2006). Environmental effects on pregnancy rate in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 84, 3415-3420. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-611>
- Aprolep (2007). Os milhões e os tostões na produção de leite em Portugal. Acedido em Nov. 27, 2018, disponível em: <https://www.milkpoint.pt/o-leite-e-a-sociedade/entrevistas-espaco-aberto/os-milhoes-e-os-tostoes-na-producao-de-leite-em-portugal-106347n.aspx>
- Avillez, F., Estácio, F. e Neves, M.C. (1987). Análise de projetos agrícolas no contexto da política agrícola comum. Banco Pinto & Sotto Mayor.
- Ball, P. J. H., & Peters, A. R. (2007). *Reproduction in Cattle: Third Edition*. *Reproduction in Cattle: Third Edition*. <https://doi.org/10.1002/9780470751091>
- Barros, H., Estácio, F., (1972). Economia da Empresa Agrícola. Lisboa.
- Bartolome, J. A., Sozzi, A., McHale, J., Melendez, P., Arteché, A. C. M., Silvestre, F. T., ... Thatcher, W. W. (2005). Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows, II: Assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence of ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology*, 63, 1628-1642. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.07.017>
- Beg, M. A., & Ginther, O. J. (2006). Follicle selection in cattle and horses: Role of intrafollicular factors. *Reproduction*, 132, 365-377. <https://doi.org/10.1530/rep.1.01233>
- Bennett, R. (2003). The 'Direct Costs' of Livestock Disease: The development of a System of Models for the Analysis of 30 Endemic Livestock Diseases in Great Britain, *Journal of Agricultural Economics*, 54, 55-71.
- Berry, D. P., Buckley, F., Dillon, P., Evans, R. D., Rath, M., & Veerkamp, R. F. (2003). Genetic relationships among body condition score, body weight, milk yield, and fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 2193- 2204. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73809-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73809-0)
- Bo, G. A., Adams, G. P., Pierson, R. A., Tribulo, H. E., Caccia, M., & Mapletoft, R. J. (1994). Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a

progesterone implant. *Theriogenology*, 41, 1555-1569. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90821-Y](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90821-Y)

- Brackett, B. G., Oh, Y. K., Evans, J. F., & Donawick, W. J. (1980). Fertilization and early development of cow ova. *Biology of Reproduction*, 23, 189-205. <https://doi.org/10.1095/biolreprod23.1.189>
- Bucholtz, D. C., Vidwans, N. M., Herbosa, C. G., Schillo, K. K., & Foster, D. L. (1996). Metabolic interfaces between growth and reproduction. V. Pulsatile luteinizing hormone secretion is dependent on glucose availability. *Endocrinology*, 137, 601-607. <https://doi.org/10.1210/endo.137.2.8593808>
- Buckley, F., O'Sullivan, K., Mee, J. F., Evans, R. D., & Dillon, P. (2003). Relationships Among Milk Yield, Body Condition, Cow Weight, and Reproduction in Spring-Calving Holstein-Friesians. *Journal of Dairy Science*, 86, 2308-2319. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73823-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73823-5)
- Carter, F., Forde, N., Duffy, P., Wade, M., Fair, T., Crowe, M. A., ... Lonergan, P. (2008). Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, 20, 368-375. <https://doi.org/10.1071/RD07204>
- Cavestany, D., El-Wishy, A. B., & Foote, R. H. (1985). Effect of Season and High Environmental Temperature on Fertility of Holstein Cattle. *Journal of Dairy Science*, 68, 1471-1478. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80985-1](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80985-1)
- CEGEA, (2012). Impacto da reforma da PAC pós-2013 no sector do leite em Portugal. Porto.
- Christison, G. I., & Johnson, H. D. (1972). Cortisol turnover in heat-stressed cow. *Journal of Animal Science*, 35, 1505-1510. <https://doi.org/10.2527/jas1972.3551005x>
- Clapper, J. A., Ottobre, J. S., Ottobre, A. C., & Zartman, D. L. (1990). Estrual rise in body temperature in the bovine I. Temporal relationships with serum patterns of reproductive hormones. *Animal Reproduction Science*, 23, 89-98. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(90\)90051-G](https://doi.org/10.1016/0378-4320(90)90051-G)
- Clemente, M., De La Fuente, J., Fair, T., Al Naib, A., Gutierrez-Adan, A., Roche, J. F., ... Lonergan, P. (2009). Progesterone and conceptus elongation in cattle: A direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction*, 138, 507-517. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0152>
- Colazo, M. G., Martínez, M. F., Kastelic, J. P., Mapletoft, R. J., & Carruthers, T. D. (2002). The ischiorectal fossa: An alternative route for the administration of prostaglandin in cattle. *Canadian Veterinary Journal*, 43, 535-541.
- Crowe, M. A. (2008). Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. In *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 20-28. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01210.x>
- Cupp, A. S., Stumpf, T. T., Kojima, F. N., Werth, L. A., Wolfe, M. W., Roberson, M. S., ... Kinder, J. E. (1995). Secretion of gonadotrophins change during the luteal phase of the bovine oestrous cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17 β -oestradiol. *Animal Reproduction Science* 37, 109-119. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(94\)01333-H](https://doi.org/10.1016/0378-4320(94)01333-H)

- Dash, S., Chakravarty, A. K., Singh, A., Upadhyay, A., Singh, M., & Yousuf, S. (2016). Effect of heat stress on reproductive performances of dairy cattle and buffaloes: A review. *Veterinary World*, 9, 235-244. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.235-244>
- De Rensis, F., Lopez-Gatius, F., García-Ispuerto, I., Morini, G., & Scaramuzzi, R. J. (2017). Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season. *Theriogenology*, 91, 145–153. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.024>
- De Rensis, F., & Peters, A. R. (1999). The control of follicular dynamics by PGF2 α , GnRH, hCG and oestrus synchronization in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1999.tb01383.x>
- De Rensis, F., & Scaramuzzi, R. J. (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. *Theriogenology*, 60, 1139-1161. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00126-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00126-2)
- De Rensis, F., Valentini, R., Gorrieri, F., Bottarelli, E., & Lopez-Gatius, F. (2008). Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. *Theriogenology*, 69, 1077-1082. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.01.020>
- Dijkhuizen, A.A., Huirne, R.B.M. & Morris, R.S. (1997). Economic decision making in animal health management. *Animal Health Economics. Principles and Applications*. Edited by Dijkhuizen, A.A. and Morris, R.S. Post Graduate Foundation, University of Sydney, 41-58.
- Dijkhuizen, A.A., Huirne, R.B.M., Jalvingh, A.W. & Morris, R.S. (1997). Economic impact of common health and fertility problems. *Animal Health Economics. Principles and Applications*. Edited by Dijkhuizen, A.A. and Morris, R.S. Post Graduate Foundation, University of Sydney, 13-23.
- Diskin, M. G., & Morris, D. G. (2008). Embryonic and Early Foetal Losses in Cattle and Other Ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 260-267. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01171.x>
- Diskin, M. G., & Sreenan, J. M. (1980). Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *Journal of Reproduction and Fertility*, 59, 463-468. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0590463>
- Dobson, H., Smith, R. F., Royal, M. D., Knight, C. H., & Sheldon, I. M. (2007). The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Reproduction in Domestic Animals*, 42, 17-23. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00906.x>
- Dobson, H., Walker, S. L., Morris, M. J., Routly, J. E., & Smith, R. F. (2008). Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows? In *Animal*, 2, 1104-1111. <https://doi.org/10.1017/S175173110800236X>
- Donaldson, L. E., Bassett, J. M., & Thorburn, G. D. (1970). Peripheral plasma progesterone concentration of cows during puberty, oestrous cycles, pregnancy and lactation, and the effects of under-nutrition or exogenous oxytocin on progesterone concentration. *The Journal of Endocrinology*, 48, 599-614. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0480599>
- Driancourt, M. A. (2001). Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55, 1211-1239. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00479-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00479-4)

- Fenwick, M. A., Llewellyn, S., Fitzpatrick, R., Kenny, D. A., Murphy, J. J., Patton, J., & Wathes, D. C. (2007). Negative energy balance in dairy cows is associated with specific changes in IGF-binding protein expression in the oviduct. *Reproduction*, 135, 63-75. <https://doi.org/10.1530/REP-07-0243>
- Fielden, E. D., Harris, R. E., Shrestha, S. L., & Macmillan, K. L. (1980). Some aspects of reproductive performance in selected town-supply dairy herds. *New Zealand Veterinary Journal*, 28, 131-142. <https://doi.org/10.1080/00480169.1980.34723>
- Filion, F., Bouchard, N., Goff, A. K., Lussier, J. G., & Sirois, J. (2001). Molecular Cloning and Induction of Bovine Prostaglandin E Synthase by Gonadotropins in Ovarian Follicles Prior to Ovulation in Vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 34323-34330. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103709200>
- Fricke, P. M., Caraviello, D. Z., Weigel, K. A., & Welle, M. L. (2003). Fertility of Dairy Cows after Resynchronization of Ovulation at Three Intervals Following First Timed Insemination. *Journal of Dairy Science*, 86, 3941-3950. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)74003-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74003-X)
- Friedman, E., Roth, Z., Voet, H., Lavon, Y., & Wolfenson, D. (2012). Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer. *Journal of Dairy Science*, 95, 3092-3099. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5017>
- Friedman, E., Voet, H., Reznikov, D., Wolfenson, D., & Roth, Z. (2014). Hormonal treatment before and after artificial insemination differentially improves fertility in subpopulations of dairy cows during the summer and autumn. *Journal of Dairy Science*, 97, 7665-7675. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7900>
- Galvão, K. N., Sá Filho, M. F., & Santos, J. E. P. (2007). Reducing the Interval from Presynchronization to Initiation of Timed Artificial Insemination Improves Fertility in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 4212-4218. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0182>
- Gangwar, P. C., Branton, C., & Evans, D. L. (1965). Reproductive and Physiological Responses of Holstein Heifers to Controlled and Natural Climatic Conditions. *Journal of Dairy Science*, 48, 222-227. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(65\)88200-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(65)88200-5)
- García-Ispuerto, I., López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J. L., Nogareda, C., & López-Béjar, M. (2007). Factors affecting the fertility of high producing dairy herds in northeastern Spain. *Theriogenology*, 67, 632-638. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.038>
- Garnsworthy, P. C., Fouladi-Nashta, A. A., Mann, G. E., Sinclair, K. D., & Webb, R. (2009). Effect of dietary-induced changes in plasma insulin concentrations during the early post partum period on pregnancy rate in dairy cows. *Reproduction*, 137, 750-768. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0488>
- Gazal, O. S., Leshin, L. S., Stanko, R. L., Thomas, M. G., Keisler, D. H., Anderson, L. L., & Williams, G. L. (1998). Gonadotropin-releasing hormone secretion into third-ventricle cerebrospinal fluid of cattle: correspondence with the tonic and surge release of luteinizing hormone and its tonic inhibition by suckling and neuropeptide Y. *Biology of Reproduction*, 59, 676-683. <https://doi.org/10.1095/biolreprod59.3.676>

- Gendelman, M., Aroyo, A., Yavin, S., & Roth, Z. (2010). Seasonal effects on gene expression, cleavage timing, and developmental competence of bovine preimplantation embryos. *Reproduction*, 140, 73-82. <https://doi.org/10.1530/REP-10-0055>
- Gibbons, J. R., Wiltbank, M. C., & Ginther, O. J. (1999). Relationship between follicular development and the decline in the follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biology of Reproduction*, 60, 72-77. <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.1.72>
- Ginther, O. J., Bergfelt, D. R., Kulick, L. J., & Kot, K. (1998). Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular-wave development in cattle. *Theriogenology*, 50, 507-519. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00157-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00157-5)
- Grummer, R. R. (2007). Strategies to improve fertility of high yielding dairy farms: Management of the dry period. *Theriogenology*, 68, 281-288. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.031>
- Guzeloglu, A., Ambrose, J. D., Kassa, T., Diaz, T., Thatcher, M. J., & Thatcher, W. W. (2001). Long-term follicular dynamics and biochemical characteristics of dominant follicles in dairy cows subjected to acute heat stress. *Animal Reproduction Science*, 66, 15-34. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00082-3)
- Hafez, E. S. E. and B. H. (2000). Reproducción e Inseminación Artificial en animales. Séptima Edición. McGraw-Hill.
- Hansel, W., & Convey, E. M. (1983). Physiology of the estrous cycle. *Journal of Animal Science*, 57, 404-424. https://doi.org/10.2134/animalsci1983.57Supplement_2404x
- Hernandez, J., Shearer, J. K., & Webb, D. W. (2001). Effect of lameness on the calving-to-conception interval in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218, 1611-1614. <https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.1611>
- Hopper, R. M. (2014). *Bovine Reproduction. Bovine Reproduction*. <https://doi.org/10.1002/9781118833971>
- Huszenicza, G. Y., Jánosi, S. Z., Kulcsár, M., Kóródi, P., Reiczigel, J., Kátai, L., ... De Rensis, F. (2005). Effects of clinical mastitis on ovarian function in post-partum dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 40, 199-204. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2005.00571.x>
- Igono, M. O., Johnson, H. D., Steevens, B. J., Hainen, W. A., & Shanklin, M. D. (1988). Effect of season on milk temperature, milk growth hormone, prolactin, and somatic cell counts of lactating cattle. *International Journal of Biometeorology*, 32, 194-200. <https://doi.org/10.1007/BF01045279>
- Johnson, H. D., & Vanjonack, W. J. (1976). Effects of Environmental and Other Stressors on Blood Hormone Patterns in Lactating Animals. *Journal of Dairy Science*, 59, 1603-1617. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(76\)84413-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(76)84413-X)
- Jolly PD, McDougall S, Fitzpatrick LA, Macmillan KL, E. K. (1995). Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J Reprod Fertil Suppl.*, 49, 477-92.
- Jones, E. J., Armstrong, J. D., & Harvey, R. W. (1991). Changes in metabolites, metabolic hormones, and luteinizing hormone before puberty in Angus, Braford, Charolais, and Simmental heifers. *Journal of Animal Science*, 69, 1607-1615.

<https://doi.org/10.2527/1991.6941607x>

- Kiddy, C. a. (1977). Variation in physical activity as an indication of estrus in dairy cows. *Journal of Dairy Scienc*, 60, 235-243. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(77\)83859-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(77)83859-9)
- Kinsel, M. L., & Etherington, W. G. (1999). Factors affecting reproductive performance in Ontario dairy herds. *Theriogenology*, 50, 1221-1238. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00222-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00222-2)
- LeBlanc, S. J. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Veterinary Journal*, 176, 102-114. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.019>
- Lehrer, A. R., Lewis, G. S., & Aizinbud, E. (1992). Oestrus detection in cattle: recent developments. *Animal Reproduction Science*, 28(1-4), 355-362. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(92\)90121-S](https://doi.org/10.1016/0378-4320(92)90121-S)
- Lewis, G. S., Aizinbud, E., & Lehrer, A. R. (1989). Changes in electrical resistance of vulvar tissue in Holstein cows during ovarian cycles and after treatment with prostaglandin F2 α . *Animal Reproduction Science*, 18, 183-197. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(89\)90020-1](https://doi.org/10.1016/0378-4320(89)90020-1)
- Lopez-Diaz, M. C., & Bosu, W. T. K. (1992). A review and an update of cystic ovarian degeneration in ruminants. *Theriogenology*, 37, 1163-1183. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(92\)90173-O](https://doi.org/10.1016/0093-691X(92)90173-O)
- López-Gatius, F. (2003). Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology*, 60, 89-99. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01359-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01359-6)
- López-Gatius, F., López-Béjar, M., Fenech, M., & Hunter, R. H. F. (2005). Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: Risk factors and effects. *Theriogenology*, 63, 1298-1307. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.06.010>
- Lucy, M. C. (2001). Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *Journal of Dairy Science*, 84, 1277-1293. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70158-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0)
- Lupoli, B., Johansson, B., Uvnäs-Moberg, K., & Svennersten-Sjaunja, K. (2001). Effect of suckling on the release of oxytocin, prolactin, cortisol, gastrin, cholecystokinin, somatostatin and insulin in dairy cows and their calves. *Journal of Dairy Research*, 68, 175-187. <https://doi.org/10.1017/S0022029901004721>
- Maatje, K., de Mol, R. M., & Rossing, W. (1997). Cow status monitoring (health and oestrus) using detection sensors. *Computers and Electronics in Agriculture*, 16, 245-254. [https://doi.org/10.1016/S0168-1699\(96\)00052-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1699(96)00052-X)
- Marshall, A. (1920). *Principles of Economics* (8^a ed.). England: Palgrane classics in Economics.
- Martin, S.W., Meek, A.H. & Willeberg, P. (1987). Veterinary Epidemiology. Principles and Methods. Iowa State Universite. Chapter 9, 219-241
- Martinez, M. F., Adams, G. P., Bergfelt, D. R., Kastelic, J. P., & Mapletoft, R. J. (1999).

- Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Animal Reproduction Science*, 57, 23-33. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(99\)00057-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(99)00057-3)
- McDougall, S., Burke, C. R., Macmillan, K. L., & Williamson, N. B. (1995). Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Research in Veterinary Science*, 58, 212-216. [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(95\)90104-3](https://doi.org/10.1016/0034-5288(95)90104-3)
- Melendez, P., Bartolome, J., Archbald, L. F., & Donovan, A. (2003). The association between lameness, ovarian cysts and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 59, 927-937. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01152-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01152-4)
- Mihm, M., & Austin, E. J. (2002). The final stages of dominant follicle selection in cattle. In *Domestic Animal Endocrinology*, 23, 155-166. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(02\)00153-4](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(02)00153-4)
- Mihm, M., Baker, P. J., Ireland, J. L. H., Smith, G. W., Coussens, P. M., Evans, A. C. O., & Ireland, J. J. (2006). Molecular Evidence That Growth of Dominant Follicles Involves a Reduction in Follicle-Stimulating Hormone Dependence and an Increase in Luteinizing Hormone Dependence in Cattle. *Biology of Reproduction*, 74, 1051-1059. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.045799>
- Milvae, R. A. (2000). Inter-relationships between endothelin and prostaglandin F2alpha in corpus luteum function. *Reviews of Reproduction*, 5, 1-5. <https://doi.org/10.1530/ror.0.0050001>
- Moran, C., Quirke, J. F., & Roche, J. F. (1989). Puberty in heifers: A Review. *Animal Reproduction Science*, 18, 167-182. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(89\)90019-5](https://doi.org/10.1016/0378-4320(89)90019-5)
- Moreira, F., De La Sota, R. L., Diaz, T., & Thatcher, W. W. (2000). Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *Journal of Animal Science*, 78, 1568-1576. <https://doi.org/10.2527/2000.7861568x>
- Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C. A., Mattos, R., Lopes, F., & Thatcher, W. W. (2001). Effects of Presynchronization and Bovine Somatotropin on Pregnancy Rates to a Timed Artificial Insemination Protocol in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 84, 1646-1659. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74600-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74600-0)
- Mosher, M. D., Ottobre, J. S., Haibel, G. K., & Zartman, D. L. (1990). Estrual rise in body temperature in the bovine II. The temporal relationship with ovulation. *Animal Reproduction Science*, 23, 99-107. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(90\)90052-H](https://doi.org/10.1016/0378-4320(90)90052-H)
- Muller, C. J. C., Botha, J. A., & Smith, W. A. (1994). Effect of shade on various parameters of Friesian cows in a Mediterranean climate in South Africa. 3. Behaviour. *Anim.Sci.*
- Mulligan, F. J., & Doherty, M. L. (2008). Production diseases of the transition cow. *Veterinary Journal*, 4, 49. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.018>
- Mwaanga, E. S., & Janowski, T. (2000). Anoestrus in dairy cows: Causes, prevalence and clinical forms. *Reproduction in Domestic Animals*, 35, 193-200. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2000.00211.x>

- Navanukraw, C., Redmer, D. A., Reynolds, L. P., Kirsch, J. D., Grazul-Bilska, A. T., & Fricke, P. M. (2004). A Modified Presynchronization Protocol Improves Fertility to Timed Artificial Insemination in Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 1551-1557. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73307-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73307-X)
- Navarre, C. B. (2007). Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference. *Common Diseases of Goats*.
- Noakes, D., Parkinson, T., & England, G. (2001). Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics, 8th Edition. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. <https://doi.org/10.1016/B978-070202556-3.50042-6>
- Nocek, J. E. (1997). Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. *Journal of Dairy Science*, 80, 1005-1028. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76026-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76026-0)
- Nomenclature, C. on B. R. (1972). Recommendations for standardising bovine reproductive terms (pp. 216–237). Cornell Vet.
- Noorduizen, J.P.T.M., Frankena, K., van derHoofd, C.M. & Graat, E.A.M.(1997). Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology. Chapter XI.
- O'Callaghan, D., & Boland, M. P. (1999). Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Animal Science*, 68, 299-314. <https://doi.org/10.1017/S1357729800050311>
- Opsomer, G., Coryn, M., Deluyker, H., & De Kruif, A. (1998). An Analysis of Ovarian Dysfunction in High Yielding Dairy Cows after Calving Based on Progesterone Profiles. *Reproduction in Domestic Animals*, 33, 193-204. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1998.tb01342.x>
- Otte, M.J. & Chilonda, P.(2001). Animal Health Economics: an Introduction. FAO.
- Pancarci, S. M., Jordan, E. R., Risco, C. A., Schouten, M. J., Lopes, F. L., Moreira, F., & Thatcher, W. W. (2002). Use of Estradiol Cypionate in a Presynchronized Timed Artificial Insemination Program for Lactating Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 85, 122-131. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74060-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74060-5)
- Pemberton, R. M., Hart, J. P., & Mottram, T. T. (2001). An electrochemical immunosensor for milk progesterone using a continuous flow system. In *Biosensors and Bioelectronics*, 16, 715-723. [https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(01\)00212-3](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(01)00212-3)
- Peter, A. T., Vos, P. L. A. M., & Ambrose, D. J. (2009). Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, 71, 1333-1342. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.11.012>
- Pryce, J. E., Royal, M. D., Garnsworthy, P. C., & Mao, I. L. (2004). Fertility in the high-producing dairy cow. In *Livestock Production Science*, 86, 125-135. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00145-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00145-3)
- Pszczola, M., Aguilar, I., & Misztal, I. (2009). Short communication: Trends for monthly changes in days open in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 92, 4689-4696. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1985>
- Pushpakumara, P. G. A., Robinson, R. S., Demmers, K. J., Mann, G. E., Sinclair, K. D., Webb, R., & Wathes, D. C. (2002). Expression of the insulin-like growth factor (IGF)

- system in the bovine oviduct at oestrus and during early pregnancy. *Reproduction (Cambridge, England)*, 123, 859-868. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1230859>
- R Development Core Team, R. (2011). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-74686-7>
- Rabiee, A. R., Lean, I. J., Gooden, J. M., Miller, B. G., & Scaramuzzi, R. J. (1997). An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterio-venous difference methods in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 48, 9-25. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00032-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00032-8)
- Rahe, C. H., Owens, R. E., Fleeger, J. L., Newton, H. J., & Harms, P. G. (1980). Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology*, 107, 498-503. <https://doi.org/10.1210/endo-107-2-498>
- Rees, A., Fischer-Tenhagen, C., & Heuwieser, W. (2016). Effect of Heat Stress on Concentrations of Faecal Cortisol Metabolites in Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 51, 392-399. <https://doi.org/10.1111/rda.12691>
- Ribeiro, A. C. (2015). *Controlo Reprodutivo em Bovinos* (Publicações).
- Ribeiro, E. S., Lima, F. S., Ayres, H., Greco, L. F., Bisinotto, R. S., Favoreto, M., ... Santos, J. E. P. (2011). Effect of postpartum diseases on reproduction of grazing dairy cows. *J Dairy Sci*, 94((E-Suppl 1):63), abstract.
- Robinson, R. S., Hammond, A. J., Wathes, D. C., Hunter, M. G., & Mann, G. E. (2008). Corpus Luteum-Endometrium-Embryo Interactions in the Dairy Cow: Underlying Mechanisms and Clinical Relevance. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 104-112. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01149.x>
- Robinson T, S. J. (1977). Reproduction in cattle. In C. HH & C. PT (Eds.), *Reproduction in Domestic Animals* (3rd ed., pp. 433–451). New York: Academic Press.
- Roche, J. R.; Friggens, N. C.; Kay, J. K.; Fisher, M. W.; Stafford, K. J.; Berry, D. P. (2009). Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*, 92, 5769-5801. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2431>
- Roche, J. F. (2006). The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*, 96, 282-296. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.08.007>
- Ronchi, B., Stradaoli, G., Supplizi, A. V., Bernabucci, U., Lacetera, N., Accorsi, P. A., ... Seren, E. (2001). Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livestock Production Science*, 68, 231-241. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(00\)00232-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(00)00232-3)
- Ross, S. A., Westerfield, R., & Jaffe, J. F. (2008). *Corporate Finance. The McGraw-Hill/Irwin series in finance, insurance, and real estate*.
- Roth, Z., Meidan, R., Shaham-Albalancy, A., Braw-Tal, R., & Wolfenson, D. (2001). Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-sized and preovulatory bovine follicles. *Reproduction*, 121, 745-751. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1210745>

- Ryan, D. P., & Boland, M. P. (1991). Frequency of twin births among Holstein-Friesian cows in a warm dry climate. *Theriogenology*, 36, 1-10. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(91\)90428-G](https://doi.org/10.1016/0093-691X(91)90428-G)
- Sakatani, M., Balboula, A. Z., Yamanaka, K., & Takahashi, M. (2012). Effect of summer heat environment on body temperature, estrous cycles and blood antioxidant levels in Japanese Black cow. *Animal Science Journal*, 83, 394-402. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2011.00967.x>
- Samuelson, P. A., & Nordhaus, W. D. (2010). *Economics* (19thed.). New York. McGraw- Hill Irwin
- Sartori, R., Sartor-Bergfelt, R., Mertens, S. A., Guenther, J. N., Parrish, J. J., & Wiltbank, M. C. (2002). Fertilization and Early Embryonic Development in Heifers and Lactating Cows in Summer and Lactating and Dry Cows in Winter. *Journal of Dairy Science*, 85, 2803-2812. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74367-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74367-1)
- Sasser, R. G., Crock, J., & Ruder-Montgomery, C. A. (1989). Characteristics of pregnancy-specific protein B in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 37, 109-113.
- Schlünsen, D., Roth, H., Schön, H., Paul, W., & Speckmann, H. (1987). Automatic health and oestrus control in dairy husbandry through computer aided systems. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 38, 263-279. [https://doi.org/10.1016/0021-8634\(87\)90093-X](https://doi.org/10.1016/0021-8634(87)90093-X)
- Schofield, S. A., Phillips, C. J. C., & Owens, A. R. (1991). Variation in the milk production, activity rate and electrical impedance of cervical mucus over the oestrous period of dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 24, 231-248. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(05\)80007-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(05)80007-7)
- Senger, P. L. (1994). The Estrus Detection Problem: New Concepts, Technologies, and Possibilities. *Journal of Dairy Science*, 77, 2645-2753. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77217-9](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77217-9)
- Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., & Schuberth, H.-J. (2009). Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle1. *Biology of Reproduction*, 81, 1025-1032. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077370>
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516-1530. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>
- Sheldon, I. M., Wathes, D. C., & Dobson, H. (2006). The management of bovine reproduction in elite herds. *Veterinary Journal*, 171, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.06.008>
- Sibley, R. (2010). Biosecurity in the dairy herd. *In Practice*, 32, 274-280. <https://doi.org/10.1136/inp.c3913>
- Skarzynski, D. J., Ferreira-Dias, G., & Okuda, K. (2008). Regulation of Luteal Function and Corpus Luteum Regression in Cows: Hormonal Control, Immune Mechanisms and Intercellular Communication. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 57-65. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01143.x>

- Smith, J. W., Spahr, S. L., & Puckett, H. B. (1989). Electrical Conductivity of Reproductive Tissue for Detection of Estrus in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 72, 693-701. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79161-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79161-X)
- Smith, M. F., McIntush, E. W., & Smith, G. W. (1994). Mechanisms associated with corpus luteum development. *Journal of Animal Science*, 72, 1857-1872. <https://doi.org/10.2527/1994.7271857x>
- Snijders, S. E. M., Dillon, P., O'Callaghan, D., & Boland, M. P. (2000). Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology*, 53, 981-989. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00244-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00244-2)
- Sterry, R. A., Welle, M. L., & Fricke, P. M. (2006). Effect of Interval from Timed Artificial Insemination to Initiation of Resynchronization of Ovulation on Fertility of Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 2099-2109. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72280-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72280-9)
- Stocco, C., Telleria, C., & Gibori, G. (2007). The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocrine Reviews*, 28, 117-149. <https://doi.org/10.1210/er.2006-0022>
- Szenci, O., Beckers, J. F., Humblot, P., Sulon, J., Sasser, G., Taverne, M. A. M., ... Schekk, G. (1998). Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology*, 50, 77-88. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00115-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00115-0)
- Tanaka, T., Arai, M., Ohtani, S., Uemura, S., Kuroiwa, T., Kim, S., & Kamomae, H. (2008). Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 108, 134-143. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.07.013>
- Thom, E. C. (1959). The Discomfort Index. *Weatherwise*, 12, 57-60. <https://doi.org/10.1080/00431672.1959.9926960>
- Trimberger, G. W. (1993). Breeding Efficiency in Dairy Cattle from Artificial Insemination at Various Intervals Before and After Ovulation, (1948).
- Trout, J. P., McDowell, L. R., & Hansen, P. J. (1998). Characteristics of the Estrous Cycle and Antioxidant Status of Lactating Holstein Cows Exposed to Heat Stress. *Journal of Dairy Science*, 81, 1244-1250. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75685-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75685-1)
- Twagiramungu, H., Guilbault, L. A., & Dufour, J. J. (1995). Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, 73, 3141-3151. <https://doi.org/10.2527/1995.73103141x>
- van Schaik, C., Dijkhuizen, a a, Benedictus, G., Barkema, H. W., & Koole, J. L. (1998). Exploratory study on the economic value of a closed farming system on Dutch dairy farms. *The Veterinary Record*, 142, 240-242. <https://doi.org/10.1136/vr.142.10.240>
- Vasconcelos, J. L. M., Silcox, R. W., Rosa, G. J. M., Pursley, J. R., & Wiltbank, M. C. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating

dairy cows. *Theriogenology*, 52, 1067-1078. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00195-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00195-8)

- Walker, W. L., Nebel, R. L., & McGilliard, M. L. (1996). Time of Ovulation Relative to Mounting Activity in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 79, 1555-1561. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76517-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76517-7)
- Walsh, S. W., Williams, E. J., & Evans, A. C. O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 123, 127-138. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.12.001>
- Wang, S. J., Liu, W. J., Wu, C. J., Ma, F. H., Ahmad, S., Liu, B. R., ... Yang, L. G. (2012). Melatonin suppresses apoptosis and stimulates progesterone production by bovine granulosa cells via its receptors (MT1 and MT2). *Theriogenology*, 78, 1517-1526. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.06.019>
- Webb, R., Woad, K. J., & Armstrong, D. G. (2002). Corpus luteum (CL) function: Local control mechanisms. In *Domestic Animal Endocrinology*, 23, 277-285. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(02\)00163-7](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(02)00163-7)
- Webster, F. B., Lean, I. J., & Curtis, M. A. (1997). A case-control study to identify farm factors affecting fertility of dairy herds: Multivariate description of factors. *Australian Veterinary Journal*, 75, 262-265. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1997.tb10094.x>
- Weinand, D., & Conlin, B. J. (2003). Impacts of Dairy Diagnostic Teams on Herd Performance. *J. Dairy Sci*, 86, 1849-1857. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73772-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73772-2)
- Weiss, T. J., Nancarrow, C. D., Armstrong, D. T., & Donnelly, J. B. (1981). Modulation of functional capacity of small ovarian follicles in the post-partum cow by prolactin. *Australian Journal of Biological Sciences*, 34, 479-489. <https://doi.org/10.1071/BI9810479>
- West, J. W., Mullinix, B. G., & Bernard, J. K. (2003). Effects of Hot, Humid Weather on Milk Temperature, Dry Matter Intake, and Milk Yield of Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 232-242. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73602-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73602-9)
- Wiebold, J. L. (1988). Embryonic mortality and the uterine environment in first-service lactating dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, 84, 393-399. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0840393>
- Wilson, S. J., Kirby, C. J., Koenigsfeld, A. T., Keisler, D. H., & Lucy, M. C. (1998). Effects of Controlled Heat Stress on Ovarian Function of Dairy Cattle. 2. Heifers. *Journal of Dairy Science*, 81, 2132-2138. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75789-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75789-3)
- Wiltbank, J. N., Sturges, J. C., Wideman, D., LeFever, D. G., & Faulkner, L. D. (1971). Control of estrus and ovulation using subcutaneous implants and estrogens in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 33, 600-606. <https://doi.org/10.2527/jas1971.333600x>
- Wolfenson, D., Roth, Z., & Meidan, R. (2000). Impaired reproduction in heat-stressed cattle: Basic and applied aspects. In *Animal Reproduction Science*, 47, 9-19. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00102-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00102-0)
- Woo, M. M. M., Tai, C. J., Kang, S. K., Nathwani, P. S., Pang, S. F., & Leung, P. C. K.

- (2001). Direct action of melatonin in human granulosa-luteal cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86, 4789-4797. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.10.7912>
- Yavas, Y., & Walton, J. S. (2000). Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology*, 54, 25-55. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00323-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00323-X)
- Zwald, N. R., Weigel, K. A., Chang, Y. M., Welper, R. D., & Clay, J. S. (2004). Genetic Selection for Health Traits Using Producer-Recorded Data. I. Incidence Rates, Heritability Estimates, and Sire Breeding Values. *Journal of Dairy Science*, 87, 4287-4294. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73573-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73573-0)

ANEXOS

Tabela 7 Folha de registo dos dados recolhidos.

Número	Paridade	DL	IADX-	DX-- IAF	CIO	TOURO	INSEM	notas	Resynch
128	5	81	2	192	Sim	Rocky 4	Ricardo		sim
201	5	114	1	46	Sim	Boss	Aleh		sim
209	5	97	3	35	Sim	Rocky 4			sim
271	4	175	1	3	Não	Cartier	Aleh		sim
298	4	122	4	71	Sim	Berger	Aleh		sim
1308	4	128	2	214	Sim	Rocky 4	Aleh		sim
1340	4	112	2	53	Sim	Astrakan	Aleh		sim
1349	4	134	2	85	Sim	Berger	Aleh		sim
1365	3	97	2	15	Sim	Barrabas	Ricardo		sim
1459	3	155	2	35	Sim	Dior	Aleh		sim
2168	3	123	2	27	Sim	Rocky 4	Ricardo		sim
2181	4	77	1	1	Sim	Nissan	Ricardo		sim
2214	3	84	1	40	Sim	Barrabas	Ricardo		sim
2223	3	92	1	80	Sim	Kiwi	Aleh		sim
2225	3	169	2	40	Sim	Berger	Aleh		sim
2234	2	85	4	68	Sim	Rocky 4	Ricardo		sim
2247	2	209	3	40	Sim	Cartier	Ricardo		sim
2262	3	50	1	3	Não	Dior	Aleh		sim
2265	3	90	2	15	Sim	Dior	Aleh		sim
2291	3	80	2	8	Sim	Dior	Aleh		sim
2299	3	109	2	15	Sim	Barrabas	Aleh		sim
2300	3	89	2	24	Sim	Barrabas	Ricardo		sim
2329	3	101	1	3	Não	Dior	Aleh		sim
2333	3	101	1	3	Não	Dior	Aleh		sim
2338	3	89	2	27	Sim	Boom	Ricardo		sim
3021	2	115	1	3	Não	Barrabas	Aleh		sim
3032	2	105	1	3	Não	Dior	Ricardo		sim
3033	3	93	1	3	Não	Kiwi	Aleh		sim
3050	2	217	2	24	Sim	Cartier	Aleh		sim
3061	2	129	1	3	Sim	Barrabas	Aleh		sim
3104	2	128	2	10	Sim	Astrakan	Aleh		sim
3126	2	198	2	28	Sim	Berger	Aleh		sim
3128	2	111	1	3	Sim	Branceille	Aleh		sim
3134	2	79	2	24	Sim	Dior	Aleh		sim
3136	2	77	3	60	Sim	Astrakan	Aleh		sim
3140	2	109	1	3	Sim	Bulgari	Ricardo		sim

3143	2	99	1	3	Não	Barrabas	Aleh		sim
3152	1	170	1	3	Sim	Cartier	Aleh		sim
3160	2	88	1	3	Sim	Barrabas	Aleh		sim
3179	2	91	2	29	Sim	Kiwi	Aleh		sim
3196	1	278	2	31	Sim	Barrabas	Aleh		sim
3212	1	119	5	90	Sim	Astrakan	Ricardo		sim
4404	1	234	1	16	Sim	Cartier	Ricardo		sim
4418	1	181	5	101	Sim	Barrabas	Aleh		sim
4450	1	84	1	3	Sim	Cartier	Aleh		sim
4457	1	245	3	34	Sim	Rocky 4	Ricardo		sim
4459	2	79	1	3	Não	Kiwi	Aleh		sim
4466	1	93	4	56	Sim	Cartier	Ricardo		sim
4470	1	219	1	3	Não	Barrabas	Aleh		sim
4473	1	88	4	73	Sim	Bulgari	Aleh		sim
4478	1	138	1	3	Não	Barrabas	Aleh		sim
4486	1	78	1	9	Sim	Dior	Aleh		sim
4501	1	88	2	34	Sim	Astrakan	Paula		sim
4505	1	133	3	55	Sim	Dior	Aleh		sim
4509	1	127	1	3	Sim	Bulgari	Aleh		sim
4513	1	103	2	39	Sim	Barrabas	Aleh		sim
4515	1	114	4	81	Sim	Barrabas	Ricardo		sim
4524	1	147	1	3	Não	Barrabas	Ricardo		sim
4529	1	147	1	3	Sim	Dior	Aleh		sim
4534	1	131	1	3	Sim	Astrakan	Aleh		sim
4544	1	80	1	3	Não	Bulgari	Aleh		sim
4554	1	85	1	3	Não	Dior	Aleh		sim
4557	1	186	1	3	Não	Morrison	Aleh		sim
4593	1	179	2	26	Sim	Berger	Berger		sim
4604	1	99	1	3	Sim	Barrabas	Aleh		sim
5635	1	111	2	39	Sim	Morrison	Aleh		sim
5648	1	93	1	14	Sim	Kiwi	Aleh		sim
9649	6	117	1	3	Não	Dior	Aleh		sim
9669	5	80	6	115	Sim	Rocky 4	Aleh		sim
3177	2	146	1	12	Sim	Tufsup	Aleh		sim
2356	3	261	3	40	Sim	Tufsup	Aleh		sim
3173	2	176	4	112	Sim	Rocky 4	Paula		sim
2306	3	195	2	19	Sim	Morrison	Aleh		sim
276	5	140	2	42	Sim	Morrison	Aleh		sim
4430	2	138	5	124	Sim	Hilario	Aleh		sim
5632	1	124	3	71	Sim	Branceille	Ricardo		sim
4456	2	128	3	44	Sim	Morrison	Aleh		sim
2330	3	131	1	11	Sim	Kiwi	Aleh		sim

5617	1	141	1	3	Não	Morrison	Aleh		sim
1300	5	106	4	73	Sim	Climax	Aleh		sim
4425	2	185	1	3	Sim	Morrison	Paula		sim
5626	1	94	1	3	Não	Morrison	Ricardo		sim
5683	1	134	2	12	Sim	Kiwi	Aleh		sim
287	5	161	1	3	Não	Morrison	Aleh		sim
3030	3	81	1	13	Sim	Shopping	Paula		sim
3060	3	110	3	28	Sim	Tufsup	Aleh		sim
122	4	121	2	26	Sim	Astrakan	Paula		não
152	5	109	1	5	Sim	Spa	Jorge		não
169	4	117	1	18	Sim	Astrakan	Aleh		não
201	4	89	2	43	Sim	Astrakan	Ricardo		não
237	4	130	2	38	Sim	Astrakan	Paula		não
272	4	95	1	71	Sim	Cartier	Aleh		não
287	4	126	2	16	Sim	Dior	Aleh		não
309	4	92	3	47	Sim	Cartier	Ricardo		não
1300	4	111	1	67	Sim	Dior	Aleh		não
1304	3	123	3	87	Sim	Cartier	Aleh		não
1333	4	100	3	36	Sim	Secco	Ricardo		não
1336	3	182	3	80	Sim	Oklahoma	Jorge		não
1354	3	107	1	3	Sim	Astrakan	Ricardo		não
1365	2	97	2	79	Sim	Parker	Ricardo		não
1377	3	146	1	17	Sim	Astrakan	Aleh		não
1380	3	105	3	9	Sim	Astrakan	Ricardo		não
1381	3	83	2	32	Sim	Astrakan	Aleh		não
1389	3	146	1	45	Sim	Astrakan	Ricardo		não
1421	2	101	2	59	Sim	Oklahoma	Paula		não
1441	3	131	4	94	Sim	Franc	Ricardo		não
1450	3	109	2	29	Sim	Cartier	Aleh		não
1456	2	105	2	37	Sim	Oklahoma	Ricardo		não
1459	2	111	2	26	Sim	Oklahoma	Ricardo		não
2137	2	147	1	39	Sim	Oklahoma	Paula		não
2168	2	86	3	45	Sim	Parker	Ricardo		não
2199	2	138	7	3	Sim	Spa	Aleh		não
2213	2	135	0	5	Sim	Oklahoma	Ricardo		não
2215	2	116	0	1	Sim	Astrakan	Paula		não
2223	2	88	1	48	Sim	Astrakan	Ricardo		não
2225	2	178	2	27	Sim	Astrakan	Ricardo		não
2226	2	108	7	180	Sim	Cartier	Aleh		não
2234	1	90	3	115	Sim	Parker	Jorge		não
2247	2	126	6	133	Sim	Cartier	Ricardo		não

2262	2	102	1	116	Sim	Astrakan	Aleh		não
2281	2	100	1	166	Sim	Astrakan	Aleh		não
2282	2	97	3	75	Sim	Franc	Ricardo		não
2290	2	86	3	62	Sim	Fresco	Paula		não
2294	2	96	1	13	Sim	Astrakan	Paula		não
2299	2	95	3	63	Sim	Astrakan	Ricardo		não
2300	2	75	1	44	Sim	Secco	Ricardo		não
2302	2	85	2	144	Sim	Dior	Aleh		não
2305	2	108	5	93	Sim	Astrakan	Ricardo		não
2306	2	111	1	3	Sim	Dior	Aleh		não
2333	2	88	1	3	Sim	Astrakan	Aleh		não
2340	2	96	2	41	Sim	Astrakan	Aleh		não
3011	2	88	4	73	Sim	Franc	Aleh		não
3050	2	92	1	129	Sim	Cartier	Aleh		não
3060	2	95	1	3	Sim	Dior	Aleh		não
3072	1	156	0	84	Sim	Corleone	Paula		não
3091	1	142	2	68	Sim	Astrakan	Paula		não
3094	1	97	0	101	Sim	Parker	Paula		não
3110	1	129	7	185	Sim	Fresco	Ricardo		não
3114	1	127	1	17	Sim	Parker	Jorge		não
3118	1	149	3	63	Sim	Secco	Ricardo		não
3119	1	100	3	60	Sim	Parker	Jorge		não
3136	1	106	1	4	Sim	Portu	Jorge		não
3149	1	96	1	5	Sim	Behobia	Paula		não
3151	1	118	1	38	Sim	Astrakan	Aleh		não
3160	1	92	2	30	Sim	Astrakan	Aleh		não
3162	1	94	1	5	Sim	Astrakan	Ricardo		não
3167	1	116	1	95	Sim	Dior	Aleh		não
3168	1	82	1	129	Sim	Bulgari	Ricardo		não
3171	1	88	2	29	Sim	Astrakan	Aleh		não
3173	1	122	1	10	Sim	Astrakan	Paula		não
3180	1	89	4	86	Sim	Franc	Aleh		não
3189	1	94	1	136	Sim	Cartier	Aleh		não
3190	1	117	1	45	Sim	Cartier	Ricardo		não
3192	1	87	3	117	Sim	Franc	Ricardo		não
3193	1	83	1	181	Sim	Dior	Aleh		não
3196	1	146	2	163	Sim	Barrabas	Aleh		não
3200	1	97	3	86	Sim	Cartier	Ricardo		não
3204	1	106	3	28	Sim	Astrakan	Aleh		não
3208	1	119	2	27	Sim	Branceille	Aleh		não
3209	1	124	1	17	Sim	Cartier	Ricardo		não

3212	1	120	5	88	Sim	Astrakan	Ricardo		não
3213	1	173	1	3	Sim	Dior	Aleh		não
4404	1	95	1	155	Sim	Cartier	Ricardo		não
4417	1	123	5	175	Sim	Franc	Aleh		não
4418	1	119	5	163	Sim	Barrabas	Aleh		não
4419	1	124	1	128	Sim	Dior	Aleh		não
4431	1	86	1	7	Sim	Dior	Aleh		não
4432	1	85	1	261	Sim	Bulgari	Aleh		não
9649	5	102	1	1	Sim	Astrakan	Ricardo		não

Cálculos do Orçamento Parcial de substituição

Refugo

Taxa de refugo ano sem protocolo= 2,9%

Taxa de refugo ano com o protocolo= 3,1%

Número de vacas x Taxa de refugo x Preço = Receita com refugo

Sem protocolo: $1 \times 0,029 \times 650\text{€} = 18,85\text{€}$

Com protocolo: $1 \times 0,031 \times 650\text{€} = 20,15\text{€}$

$20,15\text{€} - 18,85\text{€} = 1,30\text{€}$

Vitelos para venda

Ano sem o protocolo:

Taxa de fertilidade = 30,76%

1 vaca (30,76%) -15,38% macho

- 15,38% fêmea → taxa de refugo 2,9%

Por vaca, o número de vitelos para venda é:

$0,1538 + (0,1538 - 0,029) = 0,28$

Receita= número de vitelos x preço por vitelo

Receita= $0,28 \times 100\text{€} = 28\text{€}$

Ano com o protocolo:

Taxa de fertilidade = 26%

1 vaca (26%) – 13% macho

- 13% fêmea → taxa de refugo 3,1%

Por vaca, o número de vitelos para venda é:

$$0,13 + (0,13 - 0,031) = 0,23$$

$$\text{Receita} = 0,23 \times 100 = 23\text{€}$$

$$23\text{€} - 28\text{€} = -5\text{€}$$